



**HAL**  
open science

# Biopsies SystémAtiques de patients transplantés REnaux de novo à 3 mois post-chirurgie : impact sur la survie du greffon à 5 ans (SABRE)

Florian Terrec

► **To cite this version:**

Florian Terrec. Biopsies SystémAtiques de patients transplantés REnaux de novo à 3 mois post-chirurgie : impact sur la survie du greffon à 5 ans (SABRE). Médecine humaine et pathologie. 2019. dumas-02535530

**HAL Id: dumas-02535530**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02535530>**

Submitted on 7 Apr 2020

**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

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

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 une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :  
[bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4  
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>



UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES

UFR DE MÉDECINE DE GRENOBLE

Année : 2019

**Biopsies SystémAtiques de patients transplantés REaux *de novo* à 3 mois post-chirurgie : impact sur la survie du greffon à 5 ans (SABRE)**

THÈSE PRÉSENTÉE POUR L'OBTENTION DU TITRE DE DOCTEUR EN MÉDECINE, DIPLÔME D'ÉTAT

**Florian TERREC**

[Données à caractère personnel]

THÈSE SOUTENUE PUBLIQUEMENT À LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE GRENOBLE

Le : 23/10/2019

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE

Président du jury :

**Pr ROSTAING Lionel : PUPH de néphrologie**

Membres :

**Pr ZAOUI Philippe : PUPH de néphrologie**

**Dr JOUVE Thomas : PHU de néphrologie : directeur de thèse**

**Dr MALVEZZI Paolo : PH de néphrologie**

**Dr GIOVANINNI Diane : PH d'Anatomo-cyto-pathologie**

L'UFR de Médecine de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

## Remerciements

**A me femme Julie**, merci pour tout, merci d'être à mes côtés. Tu es ce qu'il y a de plus important et de plus beau dans ma vie. Je t'aime.

### **A ma famille,**

A mes parents, qui m'ont soutenu en toutes circonstances. Votre soutien sans faille et vos encouragements ont toujours été de précieuses ressources. Merci pour tout.

A mes frères Julien et Thomas, qui comptent énormément pour moi. A mon troisième frère Laurent et toute sa famille. Je vous vois moins tous les 3 et ne donne pas toujours beaucoup de nouvelles, j'espère avoir plus de temps pour vous avec mes neuf semaines de vacances par an !

A Mamé qui me manque, que j'aurais aimé avoir à mes côtés aujourd'hui.

A ma belle-famille qui m'a accueilli à bras ouverts. Laurence merci d'être venue assister à ma thèse.

Enfin à toute ma famille, nièce, neveux, belles-sœurs, cousines et cousins que j'ai toujours le plus grand plaisir à retrouver.

### **A mes amis**

Benja mon picou, brancardier au grand cœur, spécialiste de l'aération des sinus de la face.

Mes colloqs d'Annecy, Julia et Vico, qui ont été là pour moi dans une période un peu compliquée.

Les amis de Chambéry, Anaïs, Geo, Amomo, les 2 Totos, Céline, Nico et Elo, Léa dit molaire, Davy, Bandeira et les autres. Pour le plaisir !!!

Nico Pil, merci de ton aide et de ton soutien pendant mon premier semestre où mon surnom était « la faucheuse », j'ai d'abord connu un co-interne efficace puis un ami.

Mes co-internes de médecine interne, de maladie infectieuse et de réa med, merci pour les moments partagés, les bons comme les moins bons.

A tous mes copains que j'ai pu me faire pendant ces 5 années d'internat.

A mes copains de fac, Marie, Guillaume et Martin, on ne se voit pas assez mais j'ai toujours un plaisir énorme à vous retrouver.

Aux Chevillotte/Tordjman, un couple qui pète !

Aux copains de Noum's, vous me manquez hâte de venir vous voir en mars.

Aux copains de Troyes, Martin, Baptiste et les autres je vous aime tous !

## **A mes collègues**

Merci au Pr Rostaing d'avoir dynamisé le service de néphrologie, merci de m'avoir donné (sur le tard !) le goût de la recherche clinique. Vous aurez été d'une aide précieuse dans mes travaux de mémoire et de thèse.

Paolo, merci pour ton franc-parler et ta sympathie ; tu as été un des piliers de ma formation d'interne de néphrologie.

Rachel, tu m'as également beaucoup apporté ; je te souhaite le meilleur pour la suite. L'AGDUC a bien de la chance de t'avoir.

Bénédicte, ces 6 mois passés à l'HDJ m'auront permis de voir une autre facette de mon métier, moins centré sur le tout hospitalier. Merci pour ta bienveillance et ton entièreté.

Mes collègues/copains/supérieurs, Johan, Thomas, Yann et Hamza, merci pour votre bonne humeur, votre disponibilité, votre aide et notre entraide. Partager votre bureau me permet de rester à 10/10 ! Yann tu vas me manquer, j'espère que tu vas t'épanouir à la Mut'.

Thomas, mon directeur de thèse, merci pour ta grande aide, ton enthousiasme, et ta patience devant mon incapacité à travailler autrement qu'à la dernière minute.

Travailler avec vous tous m'aura permis de me former sereinement à mon travail de néphrologue et me donne envie de m'investir pleinement dans les projets du service dans les années à venir.

Aux infirmier(e)s et aides-soignantes de l'HDJ, du 3L et du 14, avec qui j'ai toujours grand plaisir à travailler dans la bonne humeur. Mention spéciale à Quentin mon infirmier préféré.

A notre super équipe de secrétaires, notamment Ghyslaine qui m'aura beaucoup aidé dans mes travaux.

A nos anapaths, Diane, Nicole et Camille, merci pour votre aide au quotidien. Diane merci pour ton travail de relecture et ton soutien pour ce travail.

A Carla (prononcé Corla), Jules et Omar, mes premiers internes au top, merci d'avoir essuyé les plâtres.

A mes co-internes de néphrologie, Morgane(s), Charlotte, Guillaume, Louis, Valoche, Catoche, Anne-So, Antoine, Lémine, Soufiane, Houyem et Rick, on a vraiment la chance d'avoir une belle équipe à Grenoble.

Merci à tous d'être là !

## Table des matières

Remerciements .....	2
Abréviations .....	8
1. Introduction .....	9
1.1. Epidémiologie de la transplantation rénale .....	9
1.2. Classification de Banff .....	13
1.2.1. Lésions élémentaires .....	14
1.2.2. Immunofluorescence : le C4d .....	21
1.2.3. Catégories diagnostiques dans la classification de Banff .....	24
2. Biopsies systématiques de greffon : revue de la littérature .....	35
2.1. Introduction .....	35
2.2. Biopsies systématiques : quand la faire ? .....	39
2.2.1. Aparté : Biopsies précoces .....	39
2.2.2. Biopsies à M3 .....	41
2.2.3. Biopsies à 1 an .....	42
2.3. Complications .....	44
2.4. Problématique de l'étude .....	44
3. Références .....	48
4. Etude .....	54
4.1. Abbréviation .....	55
4.2. Abstract .....	56
4.1. Introduction .....	57
4.1.1. Study design .....	58
4.1.2. Immunosuppressive regimen .....	60
4.1.3. Endpoints .....	61
4.1.4. Statistical analysis .....	62
4.2. Results .....	62
4.2.1. Recipients' characteristics .....	62

4.2.2.	Biopsies characteristics: Banff classification and chronic lesions .....	66
4.2.3.	Propensity score coefficients.....	68
4.2.4.	5 years DCGS rate with or without biopsies .....	69
4.2.5.	5 years GFR decline rate with or without biopsies .....	71
4.3.	Discussion.....	72
4.4.	Conclusion .....	77
4.5.	References.....	78
5.	Supplementary Material.....	82

## Tableaux et figures

Tableau 1 : Classification de Banff : définition des lésions élémentaires <sup>10</sup> .....	13
Tableau 2: Récapitulatif lésions élémentaires <sup>10</sup> .....	23
Figure 1 : Survie du greffon rénal selon la période de greffe.....	10
Figure 2 : Glomérulite : occlusions des capillaires glomérulaires par des éléments mononucléés (x40, CD68).....	14
Figure 3 : Capillarite péri tubulaire : présence d'éléments mononucléés dans la lumière d'un capillaire péri tubulaire (x40, HES) .....	15
Figure 4 : Artérite intinale v2 : Infiltration de la média par des éléments mononucléés et obstruction vasculaire d'environ 30% (x40, PAS) .....	16
Figure 5 : Infiltration de l'épithélium tubulaire par des lymphocytes (t2) (x40, HES).....	17
Figure 6 : Présence d'un infiltrat inflammatoire interstitiel i2 (2.50,PAS) .....	18
Figure 7 : Glomérulopathie d'allogreffe : doubles contours et hyperplasie mésangiale visible en coloration argentique (x63).....	19
Figure 8 : Epaissement des tiges mésangiales (x40,PAS) .....	20
Figure 9 : Dépôts de C4d en immunoperoxydase (x200, à gauche) et en immunofluorescence ( à gauche) .....	22



## **Biopsies systématiques de patients transplantés rénaux *de novo* à 3 mois post-greffe : impact sur la survie du greffon à 5 ans (SABRE)**

### **Résumé**

**Introduction :** Dans beaucoup de centres de greffe rénale, une biopsie rénale systématique (BRS) est réalisée à 3 mois post-greffe (M3), sans bénéfice démontré sur la survie du greffon censurée par le décès (DCGS). La DCGS dépend de nombreuses variables qui sont de potentiels biais, spécialement chez les patients fragiles. Dans cette étude, nous comparons la DCGS entre les patients bénéficiant d'une BRS ou non, en prenant en compte ces biais.

**Patients et Méthodes :** Dans cette étude monocentrique menée de Janvier 2007 à Décembre 2013, nous avons inclus les patients transplantés rénaux *de novo* avec une survie minimum de 3 mois, ayant bénéficié ou non d'une BRS. Les BRS ont été débutées en 2009. Nous avons construit un score de propension (PS) de probabilités d'avoir une BRS. Le critère de jugement principal était la DCGS à 5 ans, avec ou sans BRS, rapporté au PS (seuil à 0,75)

**Résultats :** Un total de 660 patients a été inclus : 333 ont bénéficié d'une BRS, 286 n'en n'ont pas eu (dont 175 avant 2009). Dans un modèle de survie de Kaplan-Meier bivarié, une BRS à M3 est associée une meilleure DCGS à 5 ans, indépendamment du PS ( $p < 0,001$ ). 3 groupes peuvent être distingués : les patients avec une BRS et un  $PS > 0,75$  avait la meilleur DCGS et les patients sans BRS et un  $PS < 0,75$  avait la moins bonne DCGS. Les autres patients avaient une DCGS intermédiaire.

**Conclusion :** Une BRS à M3 est associée à un bénéfice de survie du greffon indépendamment des comorbidités évaluées par le PS. Ces résultats s'expliquent par une prise en charge plus précoce des évènements immunologiques infracliniques. On peut également supposer une meilleure gestion de l'immunosuppression et de l'arrêt des stéroïdes

**MOTS CLÉS :** transplantation rénale, biopsie systématique, survie du greffon, rein, transplantation, biopsie.

**FILIÈRE :** [Néphrologie](#)

## Abréviations

IRCT : Insuffisance Rénale Chronique Terminale

HTA : HyperTension Artérielle

ABMR : AntiBody Mediated Rejection

BKV : polyomavirus BK

PBG : Ponction Biopsie de Greffon

DSA : Donor Specific Anti-body

TCMR : T-Cell Mediated Rejection

ENDAT : transcrits endothéliaux

i-IFTA : inflammation dans une zone de fibrose interstitielle et d'atrophie tubulaire

FIAT : Fibrose Interstitielle et Atrophie Tubulaire

PTLD : Post Transplant Lymphoproliferative Disorder

DFG : Débit de Filtration lomérulaire

# 1. Introduction

## 1.1. Epidémiologie de la transplantation rénale

L'insuffisance rénale chronique est un problème majeur de santé publique. Elle concerne 600 millions de personnes dans le monde et plus de 3 millions en France<sup>1</sup>. Sa progression vers le stade terminal nécessite un traitement de suppléance soit par dialyse, soit par transplantation rénale. **Chaque année en France, plus de 10 000 patients débutent un traitement par dialyse<sup>1</sup>**. Actuellement, plus de 40 000 patients sont dialysés régulièrement et 38 000 vivent avec une greffe rénale<sup>1</sup>. La prise en charge de l'insuffisance rénale chronique terminale (IRCT) est un enjeu qui ne cesse d'augmenter dans un contexte d'allongement de la durée de vie et de l'augmentation de l'incidence de l'hypertension artérielle (HTA), 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 un peu plus de 4 milliards d'euros par an<sup>1</sup>.

**La transplantation rénale est le traitement de choix de l'insuffisance rénale chronique terminale.** En effet la transplantation rénale :

- Augmente la durée de vie des patients ;
- Diminue la morbidité des patients ;
- Améliore la qualité de vie des patients ;
- Diminue le coût de la prise en charge comparativement à la dialyse<sup>2-4</sup>.

Ce traitement de référence de l'IRCT reste cependant insuffisamment accessible aux patients du fait de la **pénurie de greffons rénaux**. La prévalence des maladies rénales chroniques est en effet en augmentation, mais sans augmentation significative du nombre de greffons rénaux disponibles.

De ce fait, le nombre de patients inscrits sur la liste nationale d'attente en France a doublé en 10 ans : 5 675 en 2005 contre 13 513 en 2017<sup>5</sup>.

Malgré les avancées médicales considérables de ces dernières décennies dans le domaine de la transplantation, la survie à long terme des greffons rénaux ne s'est malheureusement pas beaucoup améliorée<sup>6,7</sup>. En France, chez les 24 147 patients transplantés entre 1993 et 2008, la survie des greffons rénaux est de :

- 90% à 1 an de la greffe ;
- 79% à 5 ans de la greffe ;
- 63% à 10 ans de la greffe<sup>5</sup>.

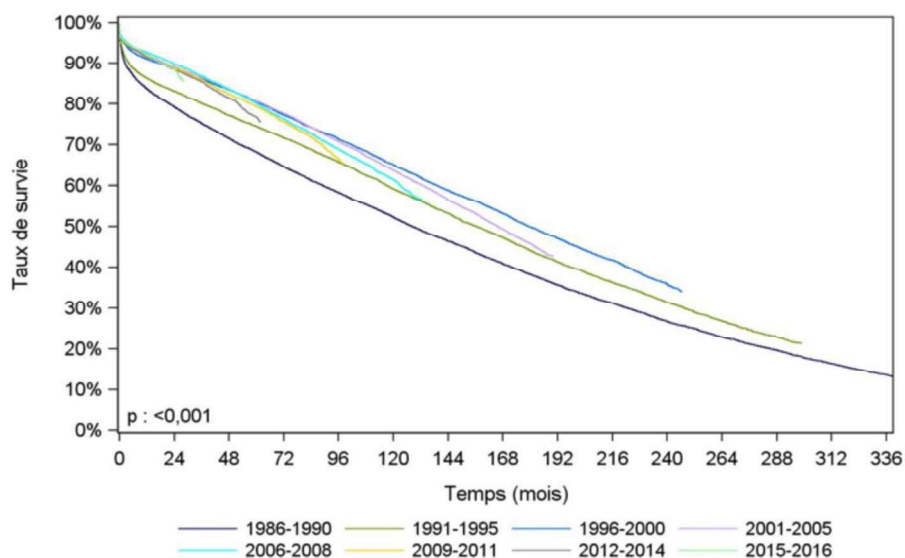


Figure 1 : Survie du greffon rénal selon la période de greffe

**Les causes de perte de greffons sont diverses.** Dans une étude prospective<sup>9</sup> incluant une population non sélectionnée de 315 receveurs de greffons rénaux, Sellares *et al.* ont analysé les causes de perte des greffons à partir des biopsies de greffons 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 greffons (soit 24%) ont été perdus durant le suivi post-greffe :
  - 14 en raison du décès du receveur ;
  - Chez 56 des 60 receveurs restants, la cause de la perte du greffon a pu être établie comme suit:
    - 36 (soit 64%) dues à un rejet :
      - 28 rejets médiés par les anticorps (ABMR) ;
      - 5 ABMR probables ;
      - 3 rejets mixtes ;
    - 10 (soit 18%) dues à une glomérulopathie (récidive de la maladie initiale ou maladie *de novo*) ;
    - 4 (soit 7%) dues à une néphropathie secondaire au polyomavirus (BKV) ;
    - 6 (soit 11%) en rapport avec un évènement intercurrent médical ou chirurgical.

Actuellement, la biopsie de greffon (PBG) reste le pilier diagnostique dans le cadre des dysfonctions de greffon. En effet, la biopsie d'un rein transplanté fournit des informations permettant d'établir le diagnostic, d'évaluer la gravité des lésions, de prédire la réponse au traitement et d'envisager le pronostic.

L'évaluation histologique est souvent indispensable pour différencier les nombreuses causes de dysfonction aiguë du transplant :

- Les lésions tubulaires aiguës ;
- La toxicité des inhibiteurs de la calcineurine ;
- Un phénomène obstructif ;
- Divers processus comme des infections ou une toxicité médicamenteuse, caractérisés par des infiltrats inflammatoires dans l'allogreffe.

En 1991, des pathologistes et néphrologues se sont réunis dans la ville canadienne de Banff sous l'impulsion de deux anatomo-pathologistes, les Drs Lorraine Racusen et Kim Solez, dans le but de systématiser la lecture des biopsies de greffon. Ceci a permis la mise en place de la classification de Banff, classification standardisée et internationale des biopsies des greffons rénaux (et d'autres organes), remise à jour tous les deux ans. La première version de la classification de Banff y a été écrite ; celle-ci est depuis en perpétuelle évolution : il y a eu 14 conférences depuis 1991, la dernière version datant de 2017.

## 1.2. Classification de Banff

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<sup>10</sup>. 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 « insuffisante » si elle comporte moins de sept glomérules et aucune artère de moyen calibre ;
- La biopsie est « adéquate » avec plus de dix glomérules et deux artères de moyen calibre ;
- La biopsie est « limite » dans les cas ne répondant à aucune des deux autres définitions.

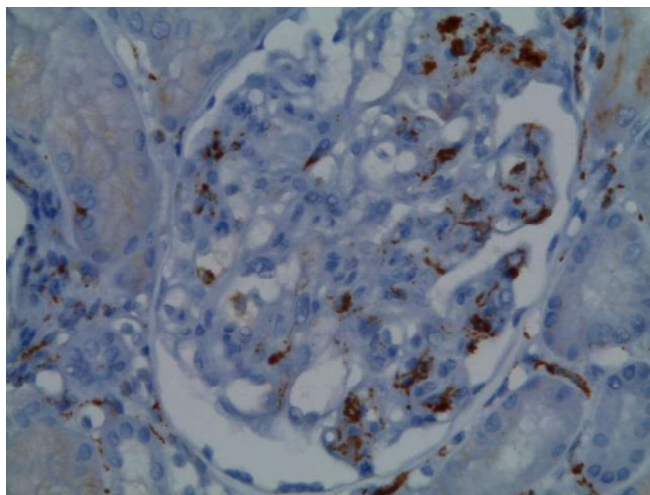
Tableau 1 : Classification de Banff : définition des lésions élémentaires<sup>10</sup>

Lésions aiguës		Lésions chroniques
<b>Glomérule</b>	Glomérulite (g)	Glomérulopathie d'allogreffe (cg) Hypertrophie mésangiale (mm)
<b>Tubules</b>	Tubulite (t)	Atrophie tubulaire (ct)
<b>Interstitium</b>	Infiltrat inflammatoire (i)	Fibrose interstitielle (ci)
<b>Vaisseaux</b>	Artérite intimale (v) Capillarite péri-tubulaire (cpt)	Endartérite fibreuse (cv) Hyalinose artériolaire (ah et aah)

### 1.2.1. 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 :

- **La glomérulite (score « g »)** (Figure 2) définie par la présence d'éléments mononucléés 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 est soit segmentaire ou globale :
  - g0 : absence ;
  - $g1 \leq 25\%$  ;
  - $25\% < g2 \leq 75\%$  ;
  - $g3 > 75\%$ .

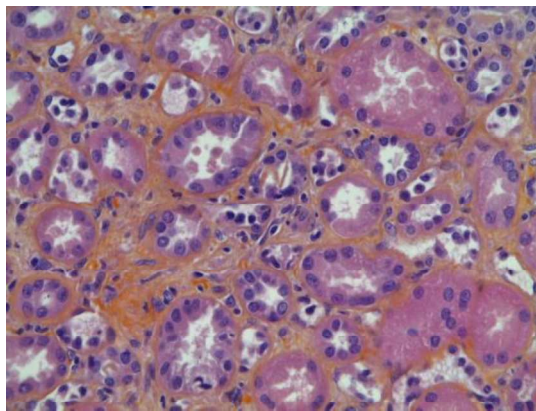


*Figure 2 : Glomérulite : occlusions des capillaires glomérulaires par des éléments mononucléés (x40, CD68), photo prise à partir de biopsie dans le SACP, CHUGA*



La nouvelle classification de Banff<sup>11</sup> 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.

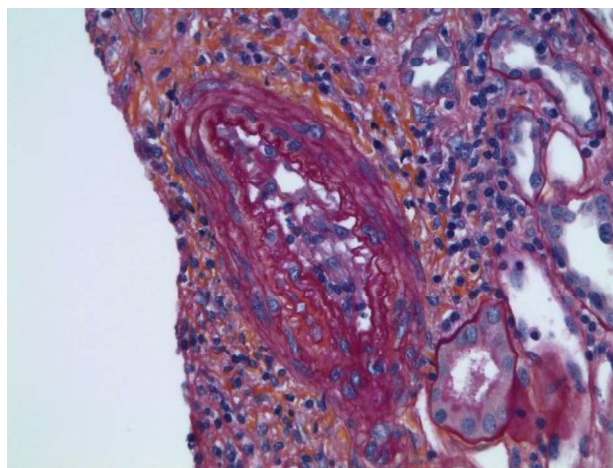
- **La capillarite (score « cpt »)** (Figure 3) est définie par la présence de cellules dans les capillaires péri-tubulaires ectasiques. Le score est établi en fonction du nombre maximum de cellules inflammatoires présentes dans une lumière capillaire, sans tenir compte des capillaires coupés longitudinalement,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



*Figure 3 : Capillarite péri-tubulaire : présence d'éléments mononucléés dans la lumière de capillaires péri-tubulaires (x40, HES), photo prise à partir de biopsie dans le SACP, CHUGA*

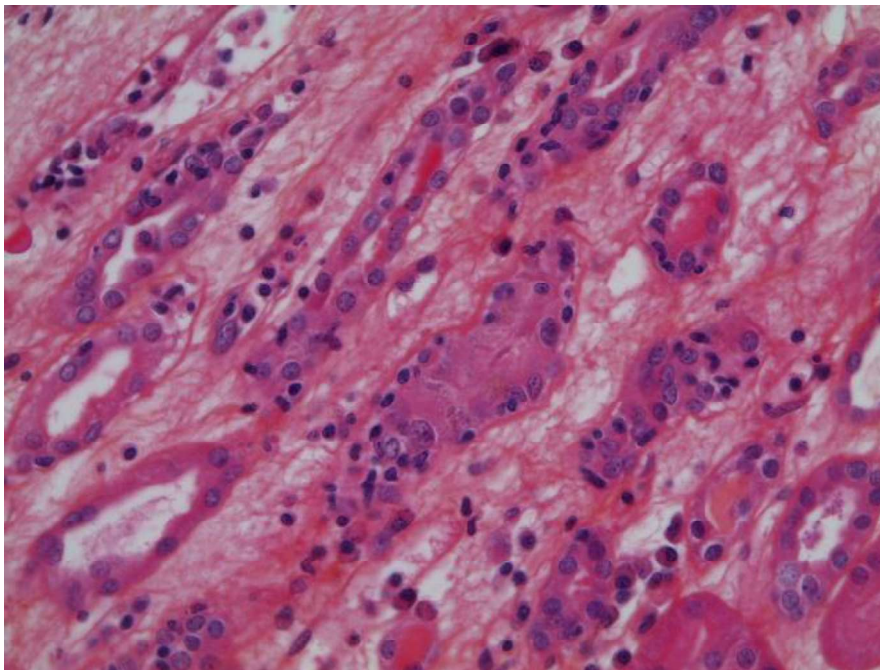
- **L'endothélite et l'artérite intimale (score « v »)** (Figure 4) sont définies par le degré d'obstruction vasculaire, le degré d'extension de l'inflammation aux différentes tuniques et par l'existence ou non de nécrose pariétale :
  - v0 : absence ;
  - v1 : obstruction  $\leq$  25% ;
  - v2 : obstruction  $>$  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<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup> et étaient considérées par la classification de Banff comme quasi exclusivement des formes de rejet à médiation cellulaire. La classification de Banff 2013 reconnaît ces lésions d'artérite intimale comme une possible expression histologique des rejets médiés par anticorps.



*Figure 4 : Artérite intimale v2 : Infiltration de la média par des éléments mononucléés et obstruction vasculaire d'environ 30% (x40, PAS), photo prise à partir de biopsie dans le SACP, CHUGA*

- **La tubulite (score « t »)** (Figure 5) 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 tubes présentant de 1 à 4 lymphocytes par section tubulaire ou pour 10 cellules épithéliales tubulaires ;
  - t2 : 5 à 10 lymphocytes par section tubulaire ;
  - t3 : > 10 lymphocytes par section tubulaire ou > 2 foyers de destruction de la membrane basale tubulaire.



*Figure 5 : Infiltration de l'épithélium tubulaire par des lymphocytes (t2) (x40, HES), photo prise à partir de biopsie dans le SACP, CHUGA*

- **L'inflammation interstitielle (score « i »)** (Figure 6) 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) :
  - $i_0 < 10\%$  ;
  - $10\% < i_1 < 25\%$  ;
  - $25\% < i_2 < 50\%$  ;
  - $i_3 > 50\%$ .

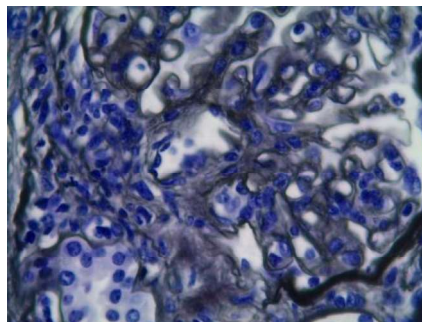
Une étoile (\*) indique la présence de plus de 5% de polynucléaires neutrophiles, éosinophiles ou de plasmocytes.



*Figure 6 : Présence d'un infiltrat inflammatoire interstitiel i2 (2.50,PAS), photo prise à partir de biopsie dans le SACP, CHUGA*

Les **lésions chroniques principales** sont :

- **La glomérulopathie d'allogreffe (score « cg »)** (Figure 7) 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 ;
  - cg1b : présence de doubles contours sur au moins une anse capillaire du glomérule non scléreux le plus atteint ;
  - $25\% < cg2 < 50\%$  ;
  - $cg3 > 50\%$ .

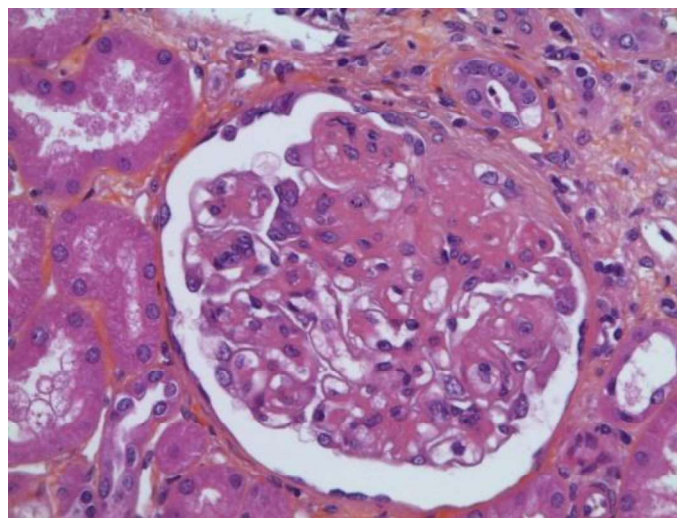


*Figure 7 : Glomérulopathie d'allogreffe : doubles contours et hyperplasie mésangiale visible en coloration argentique (x63), photo prise à partir de biopsie dans le SACP, CHUGA*

Son incidence varie de 2 à 6% des greffons biopsiés pour dysfonction chronique<sup>12</sup>. 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 en raison de sa forte association aux anticorps circulants dirigés contre le greffon (DSA) (plus de 70% des cas, principalement des DSA contre les antigènes HLA de classe II)<sup>13</sup>.

- **L'hyperplasie mésangiale (score « mm »)** (Figure 8) est définie par un épaississement des tiges mésangiales. Le score dépend du nombre de glomérules atteints :

- mm0 : absence ;
- mm1 < 25% des glomérules ;
- 25% < mm2 < 50% ;
- mm3 > 50%.



*Figure 8 : Epaississement des tiges mésangiales (x40,PAS), photo prise à partir de biopsie dans le SACP, CHUGA*



Les **autres lésions élémentaires de la classification de Banff** appartenant au registre des lésions chroniques 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) ;
- La hyalinose artériolaire (score ah et aah).

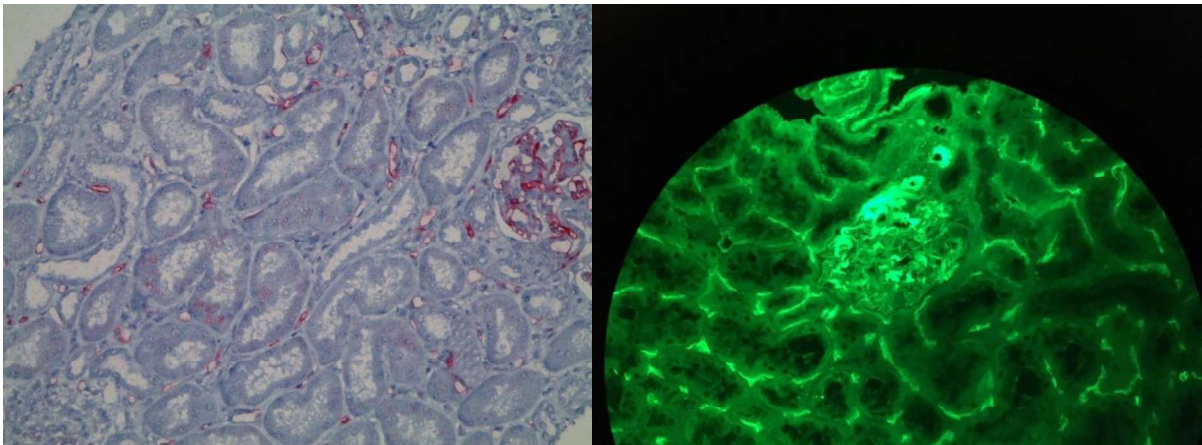
### **1.2.2. Immunofluorescence : le C4d**

Le **C4d** est un produit inactif issu de la catalyse de la fraction C4 du complément lors de l'activation de la voie classique du complément. Il se dépose sur la face profonde des cellules endothéliales. C'est un marqueur tissulaire spécifique du rejet médié par anticorps. Le C4d est un facteur pronostique indépendant de la survie du greffon<sup>14</sup>. Les dépôts de C4d observés en l'absence de Donor Specific Antibody (DSA) sont probablement dûs 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%<sup>15</sup> et semble particulièrement faible pour le diagnostic d'ABMR chronique, de l'ordre de 40%<sup>16</sup>.

Les dépôts tissulaires de C4d peuvent être mis en évidence soit par la technique de l'immunopéroxydase (immunohistochimie) sur inclusion en paraffine soit par immunofluorescence (Figure 9) sur fragment congelé.

Le score C4d est semi-quantitatif et exprimé en pourcentage de surface tissulaire marquée :

- Négatif : 0% ;
- 1% < Minime < 10%
- 10% < Focal < 50% ;
- Diffus  $\geq$  50%.



*Figure 9 : Dépôts de C4d en immunoperoxydase (x200, à gauche) et en immunofluorescence à droite), photo prise à partir de biopsie dans le SACP, CHUGA*

Par ailleurs, l'immunofluorescence peut permettre de diagnostiquer des récurrences de néphropathie ou des néphropathies *de novo*, par exemple des dépôts mésangiaux d'IgA.



Tableau 2: Récapitulatif lésions élémentaires<sup>10</sup>

**This is a synopsis of the thresholds for all Banff Lesion Scores**

Banff lesion score,	Abbreviation	0	1	2	3
Interstitial inflammation	<i>i</i>	<10%	10-25%	26-50%	>50
Tubulitis	<i>t</i>	None	1-4/tubular cross section or 10 tubular epithelial cells	5-10	>10 or foci of tubular basement membrane destruction with $i \geq 2$ and $t2$ elsewhere
Intimal arteritis	<i>v</i>	None	<25% luminal area lost	$\geq 25\%$ luminal area lost	Transmural and/or fibrinoid change and medial smooth muscle necrosis
Glomerulitis	<i>g</i>	None	<25%	25-75%	>75%
Peritubular capillaritis	<i>ptc</i>	<3 leukocytes/ PTC	$\geq 1$ leukocyte in $\geq 10\%$ of PTCs with max. of 3-4/PTC	$\geq 1$ leukocyte in $\geq 10\%$ of PTCs with max. of 5-10/PTC	$\geq 1$ leukocyte in $\geq 10\%$ of PTCs with max. of >10/PTC
C4d	<i>C4d</i>	None	<10%	10-50%	>50%
Interstitial fibrosis	<i>ci</i>	$\leq 5\%$	6-25%	26-50%	>50%
Tubular atrophy	<i>ct</i>	None	$\leq 25\%$	26-50%	>50%
Vascular fibrous Intimal thickening	<i>cv</i>	None	$\leq 25\%$	26-50%	>50%
GBM double contours	<i>cg</i>	None	1a: only by EM 1b: $\leq 25\%$ by LM	26-50%	>50%
Mesangial matrix expansion	<i>mm</i>	None	$\leq 25\%$	26-50%	>50%
Arteriolar hyalinosis	<i>ah</i>	None	Mild to moderate in $\geq 1$	Moderate to severe in >1	Severe in many
Hyaline arteriolar thickening	<i>aah</i>	None	1 without circumferential	$\geq 1$ without circumferential	circumferential
Total inflammation	<i>ti</i>	<10%	10-25%	26-50%	>50%
Inflammation in the area of IFTA	<i>i-IFTA</i>	<10%	10-25%	26-50%	>50%

The user of this table should be familiar with the exact definitions underlying each individual Banff Lesion Score. Reliance on these thresholds alone without consideration of the regulatory statutes behind these scores is strongly discouraged. max.: maximum; PTC, peritubular capillary.

### 1.2.3. Catégories diagnostiques dans la classification de Banff

#### 1.2.3.1. Classe 2 : le rejet humoral

La définition internationale de l'ABMR a beaucoup évolué au cours de ces 20 dernières années. Depuis la première classification de Banff qui ne reconnaissait comme rejet médié par anticorps que le rejet hyper-aigu, les révisions de cette classification en 1997<sup>14,17</sup>, 2005<sup>18</sup>, 2007<sup>19</sup>, 2009<sup>20</sup>, 2011<sup>21</sup>, puis 2013<sup>22</sup> ont permis son introduction en pratique clinique courante en tant qu'entité clinique bien définie.

Il faudra attendre le début des années 1990 pour qu'Halloran *et al.* décrivent l'ABMR et son association au développement de DSA *de novo*<sup>23</sup>. 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 ont permis d'affiner le concept d'ABMR en transplantation rénale.

Puis 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 précoces d'insuffisance rénale aiguë après la transplantation<sup>24</sup> 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. En combinant les résultats publiés chez plus de 1 000 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 contre les antigènes HLA avant greffe et à l'amélioration des techniques diagnostiques, dont la détection des DSA<sup>25</sup>.

Avant les dernières révisions, les critères amenant à diagnostiquer un ABMR étaient les suivants :

- 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 une nouvelle entité de rejet a été introduite : 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 positivité du C4d et à la présence de DSA associées à :

- 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 (FIAT) ;
- Et/ou des lésions vasculaires chroniques (cv).

Puis 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 compatibles avec le diagnostic d'ABMR, mais sans retentissement sur la fonction rénale ;
- L'endothélite et l'artérite intinale jusqu'à présent non intégrées dans cette définition.

Les anomalies histologiques restent malgré tout l'élément central du diagnostic d'ABMR, notamment les lésions d'inflammation de la microcirculation, et plus récemment les modifications ultrastructurales des capillaires peri-tubulaires (multilamellisation 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<sup>26</sup>.

Parallèlement, 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<sup>27</sup>.

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<sup>28</sup>. Cette étude, réalisée à partir d'une cohorte de patients transplantés rénaux et présentant des 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 d'ENDAT dans le greffon<sup>29</sup>. Quant au marquage C4d, il était négatif chez plus de 60% des patients.

Enfin, le dernier phénotype de rejet médié par anticorps à 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.

## **En bref : Banff 2017 : critères actuels de rejet humoral aigüe**

1. Histologie : lésions active tissulaire (au moins 1) :

- Inflammation micro-vasculaire (g > 0 et/ou cpt > 0)
- Artérite intinale ou transmurale (v > 0)
- MAT aigüe en l'absence d'autre cause
- NTA, en l'absence d'autre cause

2. Interaction entre les anticorps et l'endothélium (au moins un)

- C4d + (de façon linéaire) (C4d2 / C4d3 en IF, ou C4d > 0 en IHC sur paraffine)
- Micro-inflammation : [g + ptc] ≥ 2
- Expression augmentée de transcripts de gènes associés à l'ABMR

3. DSA + (anti-HLA ou autre). Marquage C4d ou expression d'un transcript de gènes validé comme note ci-dessus.

Si les critères des sections 1 et 2 sont positifs en absence d'anticorps anti-HLA il est recommandé de rechercher des anticorps non-HLA.

## En bref : Banff 2017 : rejet humoral chronique actif

### 1. Histologie : Atteinte chronique tissulaire (au moins 1)

- Glomérulopathie du transplant (cg > 0)
- cpt avec multi-couches (EM++)
- Epaissement/Fibrose intimale : artériosclérose

### 2. Interaction entre les anticorps et l'endothélium (au moins un)

- C4d + (de façon linéaire) (C4d2 / C4d3 en IF, ou C4d > 0 en IHC sur paraffine)
- Micro-inflammation : [g + ptc] ≥ 2
- Expression augmentée de transcripts de gènes associés à l'ABMR

### 3. DSA + (anti-HLA ou autre). Marquage C4d ou expression d'un transcript de gène validé comme note ci-dessus.

Si les critères des sections 1 et 2 sont positifs en absence d'anticorps anti-HLA il est recommandé de rechercher des anticorps non-HLA

### 1.2.3.2. Classe 3 : les lésions borderline

Cette catégorie n'a pas changé depuis 2005. Il s'agit d'une définition histologique et correspond :

- Soit à des lésions de tubulite (t1, t2 ou t3) associées à une inflammation interstitielle minime (iO, i1) ;
- Soit à des lésions interstitielles (i2, i3) associées à une tubulite minime (t1).

La significativité de ses lésions, et notamment un éventuel continuum vers un rejet cellulaire reste débattu. En effet, selon Saber *et al.* en 1997, environ un tiers des patients présentant des lésions borderline sur une biopsie systématique, sans traitement spécifique, avait une majoration des lésions et un diagnostic de TCMR sur des biopsies de contrôle à 40 jours.

Plus récemment, Shapiro *et al.*<sup>30</sup> ont également trouvé sur des biopsies effectuées 7 jours après la transplantation des lésions « borderline » dans la classification de Banff et des lésions de rejet infraclinique. Dans un éditorial accompagnant cette étude<sup>31</sup>, Matas et Solez soulignent cependant qu'il convient d'être très scrupuleux sur les critères diagnostics des lésions de tubulite pour ne pas augmenter à tort l'immunosuppression.

Cependant la présence de lésions borderline n'est pas anodine. En 2014 dans Transplantation, Wu K *et al.*<sup>32</sup> ont démontré le caractère péjoratif de ces lésions sur la survie du greffon à 5 ans chez des patients ayant été biopsiés devant une détérioration de la fonction rénale (93,3% vs 97,6%,  $p < 0,001$ ).



### 1.2.3.3. Classe IV : Le rejet cellulaire (TCMR)

En ce qui concerne le TCMR, l'évaluation se concentre sur l'extension de l'inflammation lymphocytaire. Elle doit aussi prendre en compte le fait que les lymphocytes infiltrent certaines structures du transplant, provoquant une tubulite et une artérite. Étant donné que de faibles niveaux d'inflammation peuvent être constatés dans des allogreffes qui fonctionnent correctement sans pour autant nécessiter un traitement, le rejet n'est diagnostiqué qu'en cas d'artérite ou d'inflammation tubulo-interstitielle au-delà d'un certain seuil, défini dans la classification de Banff comme une inflammation interstitielle affectant plus de 25% du cortex et à l'origine d'au moins une tubulite modérée.

La présence d'une atteinte vasculaire ajoutée est un critère de gravité de ce rejet.

La classification de Banff de 2015 a été révisée pour inclure le concept d'inflammation dans une zone de fibrose interstitielle et d'atrophie tubulaire (i-IFTA) qui correspond à la présence d'inflammation dans une zone de fibrose. Cette i-IFTA est associée à une perte plus rapide de fonction du greffon<sup>33</sup>. Lefaucheur *et al.* ont montré, en étudiant des biopsies systématiques à 1 an que cette inflammation dans la fibrose était retrouvée en cas de TCMR, infection à BKV et prise de stéroïdes. En cas de TCMR la présence de i-IFTA est associée à une progression rapide de la FIAT. En 2018, Nankivell *et al.*<sup>33</sup> ont également démontré que l'i-IFTA est une conséquence histologique de l'activation de l'allo-immunité cellulaire, représentant l'interaction entre l'inflammation, l'agression tubulaire et les stigmates de réparation sur un mode fibrotique. Ils ont également démontré que l'absence de contrôle de l'i-IFTA provoquait des altérations fonctionnelles et structurelles.

**En bref : Banff 2017 : rejet cellulaire chronique/actif  
(Chronic active TCMR)**

**Grade IA** : Inflammation interstitielle impliquant >25% du cortex total (ti 2/3) et >25% parenchyme cortical sclérosé (i-IFTA 2/3)

Tubulite modérée (t2)

Exclusion des autres causes de FIAT (BK, ABMR, GN, obstruction)

**Grade IB** : ti 2/3 et i-IFTA 2/3

Tubulite sévère (t3) impliquant au moins un tube non atrophique

**Grade II** : Artériopathie chronique du greffon (fibrose intimale artériolaire avec une inflammation composée de cellules mononucléées dans la fibrose et formation d'un néo-intima) :

- v1 : grade IIA
- v2 : grade IIB
- v3 : grade IIc

**1.2.3.4. Autres catégories**

**Classe V : la fibrose interstitielle et atrophie tubulaire (FIAT)**

La FIAT est corrélée aux lésions chroniques interstitielles et tubulaire :

- FIAT 0 : ci0 et ct0 ;
- FIAT 1 : ci1 + ct1 ;
- FIAT 2 : ci2 + ct2 ;
- FIAT 3 : ci3 + ct3.

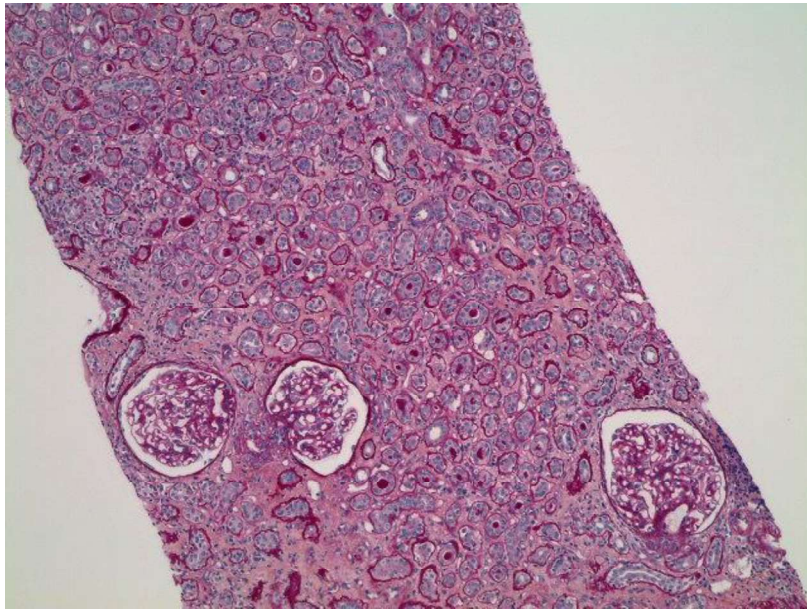


Figure 10 : FIAT 3 (x2.5,PAS), photo prise à partir de biopsie dans le SACP, CHUGA

Il n'y pas eu de changement dans la catégorie depuis 2005.

Les lésions de FIAT peuvent être la conséquence de phénomènes immunologiques (rejet humoral ou cellulaire) ou non-immunologique.

Les principales causes non-immunologiques de FIAT sont les suivantes :

- HTA ;
- Toxicité des anti-calcineurines ;
- Obstruction chronique ;
- Pyélonéphrite ;
- Virus (BK virus) ;
- Glomérulonéphrite (récidive ou *de novo*).

## **Classe VI : Autres diagnostics**

- Néphrotoxicité des anti-calcineurines
- Nécrose tubulaire aiguë
- Pyélonéphrite
- Récidive de néphropathie
- Néphropathie *de novo*
- Post-transplant lymphoproliferative disorder (PTLD)
- Néphropathie à BK virus

## **Classe I**

Pour finir la classe I de la classification de Banff correspond à une biopsie mettant en évidence une histologie rénale dite normale, en pratique cela correspond à l'absence de critères permettant de classer la biopsie dans une des 5 autres catégories.

## 2. Biopsies systématiques de greffon : revue de la littérature

*« Sur les biopsies tardives, l'infiltrat cellulaire est moins riche, mais on observe le développement d'une sclérose interstitielle, qui s'accompagne de zones d'atrophie tubulaire. Fait remarquable, en dépit de ces lésions, l'évolution fonctionnelle du transplant est loin de se faire obligatoirement vers une aggravation progressive »*

Jean HAMBOURGER, Société Médicale des Hôpitaux de Paris, 1963

### 2.1. Introduction

Il existe deux types de biopsie du greffon après transplantation : la biopsie de protocole et la biopsie d'indication. La biopsie d'indication est une biopsie effectuée lors de la mise en évidence d'une élévation de la créatinine > 20 % et/ou de l'apparition d'une protéinurie. La biopsie du greffon est alors effectuée après exclusion d'une insuffisance rénale aiguë de cause fonctionnelle ou obstructive.

Les biopsies protocolaires sont réalisées avec la même technique que les biopsies pour cause et avec les mêmes contre-indications (coagulopathie, HTA non contrôlé).

La biopsie de protocole se définit comme une biopsie effectuée à un temps fixé au préalable (par exemple, 3, 6, 12 mois après une transplantation rénale) chez un patient ayant une fonction rénale stable. L'administration d'un traitement immunosuppresseur en fonction des résultats de la biopsie de protocole est à ce jour toujours controversée.

Les premières constatations portant sur les biopsies systématiques en post-greffe de rein date de 1984, où Burdick *et al.*<sup>35</sup> ont réalisé des biopsies systématiques à 1 et 4 semaines chez des patients greffés ayant une fonction rénale stable. Ces biopsies étaient comparées à celle de patients ayant un rejet clinique évident. Ils ont constaté que la quasi-totalité des biopsies présentaient un infiltrat interstitiel et que seul l'atteinte vasculaire différenciait les greffons des patients présentant un rejet clinique des biopsies de patients à fonction rénale stable.

En 1992, Isoniemi *et al.*<sup>36</sup> publient la première étude importante sur les biopsies systématiques dites « protocol core biopsy ». À la fin des années 1990, l'équipe de Winnipeg sous l'impulsion de David Rush<sup>37</sup> propose la notion de rejet « infraclinique » ou « subaigu ». Les biopsies systématiques deviennent des biopsies de surveillance. Parallèlement, les biopsies systématiques permettent de mieux décrire la fréquence des lésions de néphropathie chronique d'allogreffe<sup>38</sup>.

En 1994 Rush *et al.* ont décrit des lésions histologiques du greffon mises en évidence sur des biopsies protocolaires, survenant en dehors de toute dégradation de la fonction rénale, mettant en évidence des rejets infracliniques. Ces rejets sont particulièrement fréquents chez les patients à haut risque immunologique. Ces lésions étaient associées à l'apparition ultérieure de lésions chroniques de glomérulopathie d'allogreffe et de fibrose interstitielle du greffon et grève ainsi le pronostic à long terme<sup>39</sup>.

Les auteurs ont dans un premier temps trouvé des lésions histologiques de rejet aigu chez 30% des patients en situation stable<sup>40</sup>. Dans un second temps<sup>41,42</sup>, les auteurs ont réalisé des biopsies systématiques sériées au premier, second, troisième, sixième et douzième mois après la transplantation. Il existait une corrélation significative entre la pauvreté de l'infiltration interstitielle et la qualité de la fonction rénale.

Enfin une étude prospective randomisée destinée à prouver que le traitement par des stéroïdes des lésions histologiques de rejet « infraclinique » pendant les 3 premiers mois de la transplantation en améliorerait les résultats<sup>43</sup>. En effet, une telle attitude a permis d'une part, de diminuer la fréquence des rejets aigus cliniques et d'autre part, d'améliorer la fonction rénale définie par la créatininémie à 2 ans. L'intérêt des biopsies systématiques fit d'ailleurs l'objet de plusieurs revues<sup>44-46</sup>.

La réalisation de biopsies systématiques a donc permis de définir le rejet infraclinique et, en le traitant, d'améliorer le pronostic rénal. Girardin *et al.*<sup>47</sup> ont en outre montré que la présence d'infiltrats de cellules mononucléées sur les biopsies précoces était associée à d'avantage de fibrose interstitielle, de sclérose glomérulaire et d'atrophie tubulaire sur les biopsies systématiques réalisées à 10 ans ainsi qu'à une moins bonne fonction rénale.

Les biopsies systématiques ont également permis de mieux évaluer la fréquence des lésions de néphropathie chronique d'allogreffe, de corrélérer celles-ci au pronostic rénal et finalement de proposer que l'évolution à court terme de certaines lésions vasculaires précoces serve de critère de substitution au développement plus tardif de la néphropathie chronique du transplant.

La biopsie rénale systématique permet donc de poser le diagnostic de rejet aigu, d'en préciser la sévérité et, dans une certaine mesure, d'en prédire la réversibilité.

À l'évidence, la réalisation des biopsies systématiques en montrant des aspects histologiques inattendus voire discordants avec la clinique, peut rendre plus complexe l'analyse d'une situation en transplantation rénale. Elle a néanmoins permis de définir le concept de rejet infraclinique, de mieux évaluer la fréquence et la sévérité des lésions de néphropathie chronique d'allogreffe. Il reste à mieux étudier son réel impact clinique et à mieux comprendre les relations entre histologie et fonction.



## **2.2. Biopsies systématiques : quand la faire ?**

Il n'existe pas de consensus sur la période optimale pour pratiquer une biopsie systématique. Avant l'avènement des immunosuppresseurs modernes, certaines études montraient une prévalence importante de rejets infracliniques à 1 mois post-transplantation<sup>51</sup>. Les thérapeutiques d'induction actuelles et l'utilisation du tacrolimus ont réduit l'incidence de rejets précoces et ont limité l'utilité de ces biopsies<sup>52</sup>. De plus des réactions inflammatoires tubulo-interstitielles peuvent perdurer jusqu'à six semaines après la transplantation rendant certaines biopsies, difficiles d'interprétation<sup>53</sup>. Dans ce contexte, la plupart des programmes de biopsies systématiques se font entre 3 et 6 mois post-transplantation. Cependant, les patients à fort risque immunologique comme les patients HLA-incompatibles désimmunisés, gardent probablement un bénéfice à la réalisation de biopsies plus précoces et surtout répétées.

### **2.2.1. Aparté : Biopsies précoces**

La biopsie en péri-transplantation a pour but d'évaluer l'état basal du rein du donneur. L'intérêt théorique d'une biopsie précoce est schématiquement triple :

- Utiliser les renseignements fournis par l'analyse du tissu rénal pour prédire l'évolution du transplant en termes de survie du greffon ou de fonction ;
- Aider à la décision de transplantation des reins dits « marginaux », suboptimaux ou limites ;
- Servir de référence pour l'interprétation des biopsies ultérieures.

La biopsie pré-greffe est réalisée pour observer les conditions basales du greffon en absence d'afflux sanguin du receveur. Un des buts de cette biopsie, si une analyse extemporanée est possible est d'éventuellement de ne pas greffer un rein porteur de trop nombreuses lésions. Cependant, même si certaines études confirment que l'analyse histologique des biopsies préimplantatoires puisse être un outil efficace dans certains cas, celle-ci est limitée par la difficulté d'accès dans des conditions non planifiées à un anatomopathologiste dédié et entraîné à la pathologie du transplanté. Ainsi, l'évaluation histopathologique (gradation de la FIAT et cotation du pourcentage de glomérules scléreux) comporte des difficultés inhérentes à la technique utilisée pour l'examen extemporané et la qualité suboptimale de l'échantillon biopsique et liées à la performance de l'observateur. Ainsi, l'étude de l'équipe de D Seron à Barcelona a rapporté la corrélation médiocre entre le diagnostic initial de biopsies préimplantatoires posé par l'anatomopathologiste d'astreinte et celui fait, à posteriori, par le spécialiste en néphrologie<sup>54</sup>.

La biopsie en post-transplantation immédiat permet cette fois-ci d'observer les conditions basales du greffon une fois l'afflux sanguin rétabli, et donc d'observer les phénomènes de réactions immunologiques initiales et d'ischémie/reperfusion.

Ces biopsies précoces permettent d'évaluer le pronostic rénal du receveur. En effet Solez *et al.*<sup>55</sup> ont montré que le degré de FIAT sur des biopsies réalisées à 1h post-transplantation était prédictif du déclin du débit de filtration glomérulaire (DFG) dans une étude regroupant 310 patients greffés dans le cadre d'un don vivant. Ces résultats sont confirmés par l'étude de Park KS *et al.*<sup>56</sup>. qui ont montré sur une série de 66 biopsies précoces que le degré de FIAT était corrélé à un risque de rejet aigu dans les suites : (hazard ratio (HR) = 3.59; p = 0.049).

### 2.2.2. Biopsies à M3

Une biopsie systématique à M3 permet d'évaluer l'état basal du greffon sous traitement immunosuppresseur. L'intérêt premier est de détecter les rejets infra-cliniques. Sous les régimes d'immunosuppression actuels, le taux de rejet infra-clinique a considérablement baissé dans les premiers mois de greffes. En 2007, Rush *et al.* ont montré dans une étude prospective multicentrique randomisée chez des patients greffés rénaux traités par tacrolimus et MMF et prednisone, biopsiés entre M1 et M6, une prévalence de rejet infra-clinique de 4.6%<sup>57</sup>.

Ces biopsies ont également un intérêt pronostic : les lésions histologiques observées à M3, notamment la présence d'infiltrats cellulaires mononucléés était associée à davantage de FIAT et de sclérose glomérulaire sur les biopsies à 10 ans et à une moins bonne fonction rénale à très long terme<sup>47</sup>.

Récemment Simphal *et al.* ont montré en analysant les résultats 1062 PBR protocolaires, que sur les biopsies sans stigmates de rejets humoraux, les lésions précoces de FIAT ainsi que la présence d'une hyalinose artériolaire sévère, identifiées sur la PBR à 3 mois, sont associées à une diminution de la survie du greffon à 5 ans<sup>58</sup>.

La réalisation d'une biopsie à M3 peut également mettre en évidence des signes de toxicité aiguë des anti-calcineurines, de récurrence de néphropathie ou d'infection à BK virus.

Enfin la biopsie à M3 peut être un outil d'aide à la gestion du traitement immunosuppresseur. En effet, si la biopsie ne présente pas de stigmates de rejets, il est possible d'individualiser le traitement immunosuppresseur, notamment en termes de choix de molécules (prescription d'un inhibiteur de m-tor en cas de néphropathie à BKV), de gestion de l'arrêt ou non des stéroïdes.

### **2.2.3. Biopsies à 1 an**

La biopsie à 1 an peut également être réalisée pour rechercher des signes de rejet infraclinique. Cette biopsie peut mettre en évidence des signes de toxicité des anti-calcineurines, d'infection à BK virus, de néphropathie chronique d'allogreffe. En effet, en cas de récurrence d'une glomérulopathie ou l'apparition d'une infection à BK virus, les premiers signes apparaissent généralement dans la première année de greffe. A ce stade de la greffe, les lésions histologiques reflètent l'effet cumulatif sur le transplant des lésions en péri-transplantation, des réponses alloimmunes, ou de la toxicité des traitements immunosuppresseurs durant la première année.

Les lésions chroniques telles que la FIAT sont plus souvent prévalentes à 1 an de transplantation que sur les biopsies réalisées plus précocement. Ces lésions de FIAT prédisent mieux l'évolution de la fonction rénale que le DFG seul<sup>59,60</sup>. Il n'est cependant pas surprenant qu'un score de chronicité élevé soit corrélé à une moindre réserve rénale.

Cependant la présence d'une inflammation co-existante pourrait être plus pertinente en termes de pronostic. En effet, en absence d'inflammation, les patients présentant des lésions de FIAT, le plus souvent héritées du donneur, ne seraient pas progressives<sup>61</sup>. Les données des biopsies systématiques réalisées à la Mayo Clinic ont montré dans une population de patients transplantés rénaux sous tacrolimus, que seulement une faible proportion de patients présentant une FIAT avait une progression de la fibrose entre 1 et 5 ans. Les patients qui présentaient une inflammation en plus de la fibrose sur la biopsie systématique à 1 an avaient une moins bonne survie à 5 ans<sup>62</sup>.

Plus récemment, en 2016 F.G. Cosio *et al.* ont montré que les résultats histologiques de biopsies protocolaires à 1 an étaient corrélés à la survie du greffon<sup>63</sup>. Comparée aux patients ayant une histologie favorable, la survie du greffon des patients ayant une histologie défavorable était réduite (hazards ratio [HR] = 4.79 [3.27–7.00],  $p < 0.0001$ ) ou une atteinte glomérulaire (HR = 5.91 [3.17–11.0],  $p < 0.0001$ ).

### 2.3. Complications

La crainte des complications inhérentes à la pratique des biopsies rénales systématiques pourrait être un frein à l'élargissement de cette pratique. Ce risque n'est pas toujours précisé dans les études sur le sujet. Dans la revue de Wilczek<sup>64</sup> aucun greffon n'a été perdu lorsque la biopsie était effectuée à distance de la transplantation rénale. Dans une étude de 2016 de Morgan TA *et al.*, le risque des biopsies systématiques était significativement plus faible que celui des biopsies réalisées pour cause (2.7% vs. 0.33%,  $p < 0.001$ ). Les patients présentaient des complications entre J0 et J14, majoritairement dans les premières 24h. Les caractéristiques des patients associées à un surrisque de complications étaient l'âge, l'urémie, la thrombopénie, le rang de greffe, le type de donneur et la prise d'anticoagulants<sup>65</sup>.

### 2.4. Problématique de l'étude

De nombreux centres de transplantation rénale réalisent des biopsies protocolaires à 1, 3, 6 ou 12 mois de la greffe. Le but poursuivi est de repérer des lésions infracliniques de rejet ou de néphrotoxicité, afin d'adapter précocement le traitement immunosuppresseur. Il existe néanmoins un risque de sur-diagnostic et de sur-traitement, par la mise en évidence de lésions asymptomatiques dont on ne connaît pas actuellement la pertinence clinique.

Si les résultats des biopsies et le diagnostic de lésions chroniques ou aiguës semblent être de mieux en mieux corrélés au devenir du greffon rénal, il n'est pas démontré à ce jour que ces constatations histologiques aient permis d'améliorer le pronostic rénal des patients.

En effet, il n'existe actuellement peu d'études comparant la survie du greffon en fonction de la réalisation ou non d'une biopsie. En 1995, le groupe de transplantation rénale de Winnipeg, a montré que l'absence d'inflammation infraclinique sur les biopsies des 6 premiers mois était associée à de meilleures fonctions rénales à 12 mois<sup>66</sup>. Par la suite, la même équipe a démontré, dans une étude randomisée et contrôlée (en groupe "biopsie" et groupe "sans biopsie"), que les patients ayant été biopsiés et traités, s'ils avaient des infiltrats sur la biopsie précoce, à l'aide de corticostéroïdes avaient une diminution de l'incidence des épisodes de rejet aigu à court terme (2-3 mois) et à long terme (7-12 mois), une diminution du score chronique de lésions tubulo-interstitielles de Banff à 6 mois et une meilleure fonction rénale par rapport au groupe non biopsié<sup>44</sup>.

On peut également citer l'étude de 2007 de Kurtoki *et al.* chez 102 patients transplantés rénaux de donneurs vivants, 52 ayant eu des biopsies systématiques à M1 et M3 et 50 des biopsies seulement pour cause. L'incidence des rejets était similaire dans les 2 groupes mais la fonction rénale était meilleure dans le groupe des biopsies protocolaires à M6 ( $p = 0.0003$ ) et 1 an ( $p < 0.0001$ )<sup>67</sup>. Cependant ces patients étaient traités par ciclosporine et non tacrolimus.

Toutefois, une étude pilote du groupe de Winnipeg a démontré par la suite que le passage à une immunosuppression de base jugée plus importante (mycophénolate mofétil [MMF], Néoral®, corticostéroïdes versus azathioprine, Sandimmun® et corticostéroïdes) n'avait pas modifié la prévalence des lésions histologiques infracliniques de rejet entre 0 et 3 mois, alors que le même traitement réduisait le nombre d'épisodes cliniques de rejet aigu précoce<sup>68</sup>.

La faible incidence de rejets cliniques durant la première année post-transplantation sous les régimes d'immunosuppression actuels, augmente l'intérêt potentiel de découvrir des rejets infracliniques par des biopsies systématiques<sup>69</sup>.

Au CHU de Grenoble, les biopsies systématiques ont été débutées en janvier 2009. Celles-ci sont réalisées à 3 mois après la greffe, en absence de contre-indication. Les raisons principales de ne pas réaliser de biopsies systématiques sont les suivantes :

- La réalisation d'une biopsie pour cause dans les premiers mois de greffe ;
- La prise d'un traitement anticoagulant ou antiagrégant avec une contre-indication à l'arrêt de celui-ci ;
- Une complication vasculaire ou infectieuse en post greffe ;
- La position du greffon en intrapéritonéal (greffe en position 3) ;
- Le refus du patient.

Dans notre étude nous sommes intéressés à l'apport de ces biopsies rénales à 3 mois sur la survie du greffon et l'évolution de la fonction rénale à 5 ans. Pour ce faire, nous avons comparé les patients de notre cohorte active de patients transplantés rénaux sur la période de janvier 2007 à décembre 2013 en pratiquant un ajustement par la réalisation d'un score de propension.



## Définition du score de propension

Le score de propension est la probabilité pour un individu de recevoir une intervention (traitement) conditionnellement à un ensemble de ses caractéristiques.

Dans le cadre d'un schéma d'étude expérimentale (RCT) le score de propension est connu et égal à 0,5.

Dans le cadre d'une étude observationnelle, il varie d'un patient à l'autre : il doit être estimé à partir des données.

**L'étude doit être exempte de « biais cachés » :**

- L'attribution du traitement est liée uniquement aux caractéristiques observées des individus
- Les sujets ayant le même score de propension sont alors « échangeables »
- Conditionner l'effet causal du traitement sur le score de propension permet une estimation de cet effet non biaisée
- Hypothèse forte d'indépendance entre appartenance au groupe de traitement et effet de traitement conditionnellement aux co-variables considérées dans le modèle<sup>70</sup>

### 3. Références

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. Roufosse C, Simmonds N, Clahsen-van Groningen M *et al.* A 2018 Reference Guide to the Banff Classification of Renal Allograft Pathology *Transplantation*. 2018;11:1795-1814
11. 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.
12. Banfi G, Villa M, Cresseri D, Ponticelli C. The clinical impact of chronic transplant glomerulopathy in cyclosporine era. *Transplantation* 2005;80:1392-7.
13. Gloor JM, Sethi S, Stegall MD, *et al.* Transplant glomerulopathy: subclinical incidence and association with alloantibody. *Am J Transplant* 2007;7:2124-32.

14. 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.
15. Racusen LC, Haas M. Antibody-mediated rejection in renal allografts: lessons from pathology. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1:415-20.
16. 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.
17. Racusen LC, Solez K, Colvin RB, et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int* 1999;55:713-23.
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. 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.
22. 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.
23. 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.
24. 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.
25. Lefaucheur C, Nochy D, Glotz D. [Antibody-mediated acute rejection]. *Nephrol Ther* 2008;4 Suppl 3:S188-91.
26. Lefaucheur C, Loupy A, Vernerey D, et al. Antibody-mediated vascular rejection of kidney allografts: a population-based study. *Lancet* 2013;381:313-9.
27. Racusen LC, Haas M. Antibody-mediated rejection in renal allografts: lessons from pathology. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1:415-20.

28. 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.
29. 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.
30. Shapiro R, Randhawa P, Jordan ML et al. An analysis of early renal transplant protocol biopsies– The high incidence of subclinical tubulitis. *Am J Transplant*, 2001, 1, 47-50.
31. Matas AJ, Solez K: From first principles – Tubulitis in protocol biopsies and learning from his-tory. *Am J Transplant*, 2001, 1, 4-5.
32. Wu K1, Budde K, Lu H, et al. The severity of acute cellular rejection defined by Banff classification is associated with kidney allograft outcomes. *Transplantation* 2014, 2014 Jun 15;97(11):1146-54.
33. Brian Nankivel et al. The Pathophysiology and Impact of Inflammation in Non scarred Renal Interstitium: The Banff i Lesion, *Transplantation* 2019, July 23.
34. Lefaucheur C, Viglietti D, Loupy A. Recognition of i-IF/TA as a component of the T cell-mediated rejection spectrum: Unselected population approach vs random case selection. *Am J Transplant*. 2018 Mar;18(3):771-772.
35. Burdick JF, Beschorner WE, Smith WJ, McGraw D, Bender WL, Williams GM, Solez K. Olsen S, Burdick JF, Keown PA, et al. Primary acute renal failure ('acute tubular necrosis') in the transplanted kidney: morphology and pathogenesis. *Medicine (Baltimore)* 1989; 68:173–187.
36. Isoniemi HM, Krogerus L, Von Willebrand E et al. Histopathological findings in well-functioning, long-term renal allografts. *Kidney int*, 1992, 41, 155-160
37. Rush DN, Jeffery JR, Gough J. Sequential protocol biopsies in renal transplant patients under triple immunosuppression: results at 6 months. *Transplant Proc*, 1994, 26, 2576.
38. Legendre C, Thervet E, Skihri H et al. Histologic features of chronic allograft nephropathy revealed by protocol biopsies in kidney transplant recipients. *Transplantation*, 1998, 65, 1506-1509.
39. Rush DN1, Henry SF, Jeffery JR, Schroeder TJ, Gough J. Histological findings in early routine biopsies of stable renal allograft recipients. *Transplantation* 94.
40. Rush DN, Henry SF, Jeffery JR et al. Histological findings in early routine biopsies of stable renal allograft recipients. *Transplantation*, 1994, 57, 208-211.

41. Rush DN, Jeffery JR, Gough J. Sequential protocol biopsies in renal transplant patients: repeated inflammation is associated with impaired graft function at one year. *Transplant proc*, 1995, 27,1017-1018.
42. Rush DN, Jeffery JR, Gough J. Sequential protocol biopsies in renal transplant patients. Clinico-pathological correlations using the Banff schema. *Transplantation*, 1995, 59, 511-514.
43. 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, 2129-2134.
44. Rush DN, Nickerson P, Jeffery JR et al. Protocol biopsies in renal transplantation: research tool or clinically useful? *Cur Opin Nephrol Hypertens*, 1998, 7, 691-694.
45. Rush DN, Karpinski ME, Nickerson P et al. Does subclinical rejection contribute to chronic rejection in renal transplant patients? *Clin Transplant*, 1999, 13, 441-446.
46. Rush D, Nickerson P, Jeffery J. Protocol biopsies in the management of renal allograft recipients. *Cur Opin Nephrol Hypertens*, 2000, 9, 615-619.
47. Girardin C, Mihatsi MJ, Peraldi MN et al. Histologic findings from 3-6 month, 2-year and 10-year protocol biopsies in kidney transplant recipients. *Am J Transplant*, 2001,1(suppl), 253.
48. Gaber LW, Moore LW, Gaber OA et al. Correlation of histology to clinical rejection reversal: a Thymoglobulin Multicenter Trial report. *Kidney Int*, 1999, 55, 2415-2422.
49. Mazzuchi E, Lucon AM, Nahas WC et al. Histological outcome of acute cellular rejection in kidney transplantation after treatment with methylprednisolone. *Transplantation*, 1999, 67, 430-434.
50. Woodle ES, Cronin D, Newell KA et al. Tacrolimus therapy for refractory acute renal allograft rejection: definition of the histologic response by protocol biopsies. *Transplantation*, 1996, 62, 906-910.
51. Kee TY, Chapman JR, O'Connell PJ, et al. Treatment of subclinical rejection diagnosed by protocol biopsy of kidney transplants. *Transplantation*.2006;82(1):36-42.
52. Gloor JM, Cohen AJ, Lager DJ, et al. Subclinical rejection in tacrolimus-treated renal transplant recipients. *Transplantation*.2002;73(12):1965-1968.
53. Mengel M, Chang J, Kayser D, et al. The molecular phenotype of 6-week protocol biopsies from human renal allografts: reflections of prior injury but not future course. *Am J Transplant*.2011;11(4):708-718.

54. Azancot MA, Moreso F, Salcedo M, Cantarell C, Perello M, Torres IB, et al. The reproducibility and predictive value on outcome of renal biopsies from expanded criteria donors. *Kidney international*. 2014;85(5):1161-8.
55. Solez K, Battaglia D, Fahmy H et al. Pathology of kidney transplant rejection. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 1993 Nov;2(6):904-11.
56. Park KS, Park SJ, Park H, et al. Association of baseline histopathology and kidney donor risk index with graft outcomes in deceased donor kidney transplantation. *Clin Nephrol*. 2019 Jun;91(6):363-369. doi: 10.5414/CN109639
57. Rush D, Arlen D, Boucher A et al. Lack of benefit of early protocol biopsies in renal transplant patients receiving TAC and MMF: A randomized study. *Am J Transplant*. 2007; 7: 2538– 2545.
58. P.Simphal, A.Lionet, J.B.Gibier *et al*. Y-a-t-il un intérêt à réaliser une ponction biopsie rénale protocolaire à 3 mois après transplantation rénale ? 2018 *Néphrologie et thérapeutique*
59. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, Allen RD, Chapman JR. The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med*. 2003;349(24):2326-2333
60. Yilmaz S, Tomlanovich S, Mathew T, et al. Protocol core needle bi-opsy and histologic Chronic Allograft Damage Index (CADI) as surrogate end point for long-term graft survival in multicenter studies. *J Am Soc Nephrol*. 2003;14(3):773-779.
61. Huang, Y., & Farkash, E. (2016). *Protocol Biopsies: Utility and Limitations. Advances in Chronic Kidney Disease*, 23(5), 326–331. doi:10.1053/j.ackd.2016.09.002
62. Park WD, Griffin MD, Cornell LD, Cosio FG, Stegall MD. Fibrosis with inflammation at one year predicts transplant functional decline. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21(11):1987-1997.
63. Cosio FG, El Ters M, Cornell LD *et al*. Changing Kidney Allograft Histology Early Posttransplant: Prognostic Implications of 1-Year Protocol Biopsies. *Am J Transplant*. 2016 Jan;16(1):194-203.
64. Wilczek HE. Percutaneous needle biopsy of the renal allograft. A clinical safety evaluation of 1129 biopsies. *Transplantation*. 1990 Nov;50(5):790-7.
65. Morgan TA, S, Burger IM et al., Complications of Ultrasound-Guided Renal Transplant Biopsies. *Am J Transplant*. 2016 Apr;16(4):1298-305.
66. Rush DN, Jeffery JR, Gough J. Sequential protocol biopsies in renal transplant patients. Clinicopathological correlations using the Banff schema. *Transplantation* 1995 ; 59, 4 : 511-4.

67. Kurtkoti J1, Sakhuja V, Sud K *et al.* The utility of 1- and 3-month protocol biopsies on renal allograft function: a randomized controlled study. *Am J Transplant.* 2008 Feb;8(2):317-23.
68. Nickerson P, Jeffery J, Gough J *et al.* Effect of increasing baseline immunosuppression on the prevalence of clinical and subclinical rejection : a pilot study. *J Am Soc Nephrol* 1999 ; 10, 8 : 1801-5.
69. Mehta R1, Sood P, Hariharan S. Subclinical Rejection in Renal Transplantation: Reappraised. *Transplantation.* 2016 Aug;100(8):1610-8.
70. Kuss O, Blettner M, Börgermann J. Propensity Score: an Alternative Method of Analyzing Treatment Effects. *Dtsch Arztebl Int.* 2016 Sep 5;113(35-36):597-603.

## 4. Etude

### **Systematic Biopsies on *de novo* renal-transplant at 3 month after surgery: impact on the transplant 5-year survival (SABRE study)**

Florian Terrec<sup>1</sup> (MD), Johan Noble<sup>1,2</sup> (MD), Hamza Naciri-Bennani<sup>1</sup>(MD), Paolo Malvezzi<sup>1,2</sup> (MD), Benedicte Janbon<sup>1</sup> (MD), P, Diane Giovannini<sup>2,3</sup> (MD), Lionel Rostaing<sup>1,2</sup> (MD, PhD), Thomas Jouve<sup>1,2</sup> (MD, PhD)

<sup>1</sup> Nephrology, Hemodialysis, Apheresis and Kidney Transplantation department, University hospital Grenoble, France

<sup>2</sup> University Grenoble-Alpes, Grenoble, France

<sup>3</sup> Pathology department, University hospital Grenoble, France



## 4.1. Abbreviation

SKB: Systematic kidney biopsy

DCGS: Death censored graft survival

PS: Propensity score

CKD: Chronic Kidney Disease

ESRD: End Stage Renal Disease

KTx: Kidney transplantation

BKV: Polyomavirus BK

TKB: Transplanted kidney biopsy

SCR: Subclinical rejection

IF/TA: Interstitial fibrosis and tubular atrophy

CNI: calcineurin inhibitor

RBC+: Red blood cell: transfusion

DGF: Delayed graft function

BMI: Body mass index

CKD-EPI: Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration equation

GFR: Glomerular filtration rate

CMV: Cytomegalovirus

EBV: Epstein Barr virus

MMF: Mycophenolate mofetil

MN : membranous nephropathy

MPGN : membranoproliferative glomerulonephritis

s-ABMR: subclinical antibody mediated rejection

TCMR: T cell mediated rejection

## 4.2. Abstract

**Background:** In many kidney-transplant centers, a systematic kidney biopsy (SKB) is performed at 3 months after renal transplantation (M3), without a demonstrated benefit on death-censored graft survival (DCGS). This DCGS depends on many variables with potential biases, especially in frail recipients. In this study, we compare DCGS between recipients undergoing a SKB and those not, accounting for potential biases.

**Methods:** This retrospective, single-center study was conducted between January 2007 and December 2013. We recruited all de novo kidney-transplant recipients with a minimum of 3 months survival. Recipients either underwent a SKB, or not (a systematic M3 kidney biopsies were introduced in 2009). We built a propensity score (PS) for each donor/recipient pair, to evaluate the odds of having a biopsy. The primary endpoint was the 5-year DCGS with or without SKB, while considering the PS (at a 0.75 threshold).

**Results:** 660 patients were included: 333 had a M3 SKB, 286 did not (175 before 2009). In bivariate Kaplan-Meier survival analysis, a M3 SKB was associated with a better 5-year DCGS independently of the PS ( $p < 0.001$ ). Three groups were distinguished: patients with a SKB and a PS  $> 0.75$  had the best DCGS, patients without a SKB and a PS of  $< 0.75$  had the worst DCGS, and the other patients had an intermediate DCGS.

**Conclusions:** A M3 SKB was associated with improved graft survival independently of potential confounders, as evaluated by a PS. These results could be explained by the identification and early treatment of subclinical immunological events. It could also be due to a better management of the immunosuppressive regimen, especially an appropriate steroid withdrawal.

**KEY WORDS:** kidney transplantation, protocol biopsies, kidney-allograft survival, kidney, transplantation; biopsy

## 4.1. Introduction

Chronic Kidney Failure (CKD) is a major medical condition which concerns approximately 600 millions persons across the world<sup>1</sup>. Renal transplantation (KTx) is the best treatment for End Stage Renal Disease (ESRD). Indeed, KTx increases life expectancy, diminishes the morbidity, improves the quality of life and decreases health-related costs when compared to dialysis<sup>2-4</sup>. Even with the medical advances over the last decades in the field of transplantation, long term transplant survival did not significantly improve over this period<sup>5,6</sup>.

Causes of transplant loss are diverse: antibody or cell-mediated rejections, recurrent or de novo nephropathy, polyomavirus (BKV) associated nephropathy, medical or surgical events or the recipient's death<sup>7</sup>.

Transplant kidney biopsies (TKB) are the diagnostic cornerstone of transplant dysfunctions. TKB often permit to establish a diagnosis, evaluate the severity of the lesions, predict a response to the treatment and have a prognostic value.

Recently, several studies suggested that early acute rejection episodes and chronic changes in the allograft were often subclinical without a concomitant rise in serum creatinine or proteinuria<sup>8-11</sup>. Hence, performing a preemptive renal allograft biopsy may help with the identification of acute or chronic rejection. It may therefore potentially alter the outcome of a renal allograft that is amenable to treatment by detecting subclinical rejection (SCR)<sup>12-15</sup>. Early recognition and treatment of SCR may improve long-term renal outcomes<sup>16, 17</sup>.

Moreover, protocol biopsies can track chronic histological changes in different compartments of the allograft, providing a more detailed picture of the allograft health. Protocol biopsies can also reveal unsuspected findings and influence therapy. Other potentially reversible chronic diseases such as chronic T-cell or antibody-mediated rejection, de novo glomerulopathy or recurrent disease, BKV nephropathy, interstitial fibrosis and tubular atrophy (IF/TA), and calcineurin-inhibitor (CNI) nephrotoxicity may be detected, which allows the modification of therapy in order to limit ongoing graft injury<sup>18-21</sup>.

Despite these benefits provided by protocol biopsies, it is uncertain that they improve long term death censored graft survival (DCGS). This DCGS depends on many variables which are potential biases, especially in fragile recipients. In this study, we compare the 5 year-DCGS between recipients with a systematic biopsy and those without, considering the previous bias.

#### **4.1.1. Study design**

We retrospectively included all patients receiving a kidney transplant between 2007 and 2013 (included). Since a systematic biopsy has been performed since 2009, we divided the cohort into three groups: in the first group (C2009/B+) are KT recipients who had a systematic biopsy at M3, transplanted between January 2009 and December 2013. The second group (C2009/B-) is made of transplant recipients receiving a kidney during the same period but who did not undergo a M3 systematic biopsy. The third group (C2007) is made of transplant recipients who did not undergo a kidney biopsy, transplanted between January 2007 and December 2008, before the establishment of systematic biopsy in our center.

The hospital electronic medical records were used to collect demographic data on recipients and donors. We collected clinical, pharmacological, biological and available histological data at baseline, M1, M3, M6, M12, M24 M36 M48 and M60. All medical data were collected from our database [CNIL (French national committee for data protection) approval number 1987785v0].

Pre-transplantation data were donor and recipient ages, HLA mismatches, pre-KTx immunization, graft rank, BMI, HTA and diabetes in recipient.

Data collected between KTx and month 3 were: transfusion requirement during the first three months after KTx (RBC+), delayed graft function (DGF), GFR level and proteinuria. Data collected after M3 were graft survival, GFR and proteinuria.

Delayed graft function was defined as any dialysis session during the first week post KTx. Pre-sensitization was defined as the presence of anti-HLA antibodies prior to KTx (as assessed by a Luminex assay). Early post KTx transfusion was defined as any red blood cell transfusion during the first 3 months after surgery. We used the Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration equation (CKD-EPI) to estimate glomerular-filtration rate (GFR).<sup>22</sup>

The biopsies were assessed according to the 2007 Banff classification<sup>23</sup>. All biopsies were read by the same pathologist. Biopsies with a class 2, 3 or 4 diagnosis, without proteinuria and with a stable kidney function, were considered as sub-clinical rejections (SCR). Lesions were graded according to the same classification with a focus on : glomerulitis (g), peritubular capillaritis (ptc) interstitial infiltration (i), tubulitis (t), intimal arteritis (v), allograft glomerulopathy (cg), fibrosis endarteritis (cv), arteriolar hyaline (ah, aah), interstitial fibrosis (ci), tubular atrophy (ct). The C4d

positivity was evaluated on immunofluorescence. A biopsy was considered accurate provided it contained at least 10 glomeruli and at least one medium vessel. It was considered “limit” with  $6 \leq \text{glomeruli} \leq 10$  but no medium vessel, and not accurate with less than 6 glomeruli.

The biopsies were performed during an out-patient stay in the nephrology unit. The procedure was performed under ultra-sound guidance with a 16G automatic needle. The Kidney graft sample was processed for light microscopy by fixation in AFA fluid and embedded in paraffin. Specimens were stained with Masson’s trichrome, hematoxylin and eosin, periodic acid-Schiff (PAS) reagent, and silver staining.

#### **4.1.2. Immunosuppressive regimen**

Every patient received induction therapy either by basiliximab (20 mg at J1 et J4) or thymoglobuline. Basiliximab was used for patients with a low immunologic risk and a viral status negative for Epstein-Barr virus (EBV). Thymoglobuline was used at different dosages depending on the immunological risk: 1 mg per kg per day for 5 days for recipients with a high immunologic risk (HLA antibody positivity, whether DSA or not), 0.75 mg per kg per day for 5 days in case of early (day 4) steroid withdrawal, 0.5 mg per kg per day for recipients with a low immunological risk.

The induction therapy was associated with steroids, tacrolimus, mycophenolate mofetil (MMF) or everolimus with the following scheme:

**Prednisone** Low immunological risk: steroids dosage was decreased to 5mg then discontinued at M3 if this was deemed reasonable based on GFR stability,

proteinuria and the M3 biopsy results. High immunologic risk: steroids were maintained at least over the first year post-transplantation.

**MMF:** 2g per day in two intakes then 1g per day from 15 days post-KTx.

**Tacrolimus** was started on day 0 for the recipients treated by basiliximab and on day 3 for recipients treated by thymoglobuline. Doses were adapted to the trough levels with a target between 8 and 12 ng/mL over the first month, then between 5 and 8 ng/mL.

### 4.1.3. Endpoints

We defined a propensity score to predict the odds of having a biopsy based on the 2009 – 2013 cohort. In this score, we accounted for the following items: donor and recipient ages, donor type (living VS deceased), DGF, graft rank, early RBC transfusion, pre-sensitization and BMI.

The primary endpoint of the survival analysis was the 5 year-DCGS rate with or without biopsy while accounting for the propensity score (with a threshold of 0.75).

The secondary endpoints were: the 5 year-GFR with or without biopsy while accounting for the propensity score (with a 0.75 threshold), the transplant 5 years survival with or without biopsy while accounting for the propensity score (0.75 threshold) and for the biopsy-guided steroid withdrawal, the rate of Banff Class 2, 3 and 4 biopsies, 5 year-DCGS according to a combined ci+ct score and 5 year-DCGS according to the cv score.

#### **4.1.4. Statistical analysis**

Kruskal-Wallis tests were used for multi-group comparisons of continuous covariates, while the Fisher exact test was used for discrete covariates. The propensity score was built as a logistic regression model, adjusting for the aforementioned covariates, to predict the probability of having a biopsy. Survival curves were compared using the log-rank test, with Kaplan-Meier representations. The accepted alpha risk was 5%. All statistical analyses were performed using the R statistical software.

## **4.2. Results**

### **4.2.1. Recipients' characteristics**

Between January 2007 and December 2013, 660 KTx were performed in our center. Data were available for 649 patients. Among these patients, a M3 systematic biopsy was performed in 367 recipients (group 2009-2013 biopsied recipients, C2009/B+). 34 of these biopsies did not contain enough material to make any interpretation: these patients were therefore considered as no-biopsy recipients. Among recipients for whom we did not perform a systematic biopsy, 175 had been transplanted between January 2007 and December 2008 (C2007) and 129 between January 2009 and December 2013 (C2009/B-). These three groups were included in the analysis (Figure a).



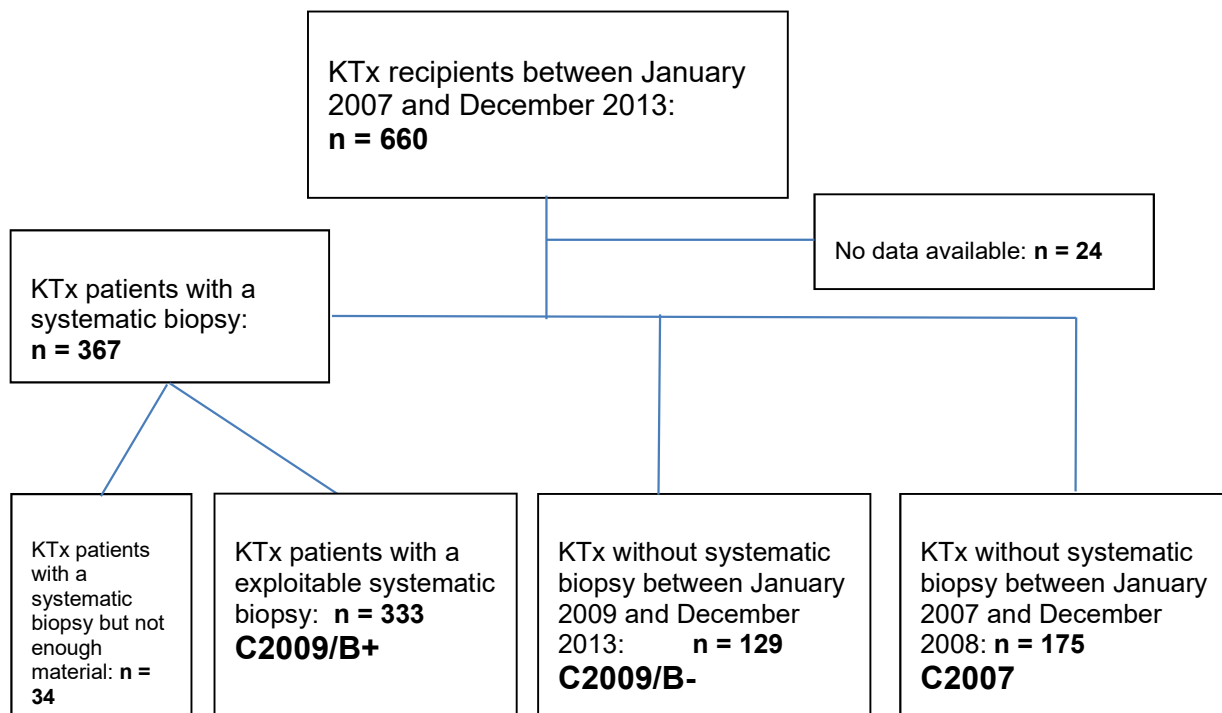


Figure a: Study flowchart

Baselines characteristics are summarized in Table A. The overall mean recipient age was 53.70 +/- 14.01 years. C2007 and C2009/B+ patients were younger than C2009/B-, respectively 52.50 +/- 14.56, 52.60 +/- 13.91 and 59.40 +/- 12.51 years ( $p < 0.001$ ). Donor age differed between groups: C2007 donors were the youngest: 49 +/- 16.59 years, while C2009/B+ donors were slightly older (53 +/- 15.48 years), with C2009/B- donors being the oldest: 60 +/- 15.00 years ( $p < 0.001$ ). BMI was similar in the 3 groups: 23.80 +/- 4.08 for C2007, 23.90 +/- 4.22 for C2009/B- and 24.20 +/- 4.90 for C2009/B+ ( $p = 0.79$ ). The pre-sensitization rate was similar between C2007 and C2009/B+ groups: respectively 23% and 25%. The pre-sensitization rate was higher (32%) in the 2009/B- group, however non significantly ( $p = 0.17$ ). Median dialysis vintage was similar in the 3 groups: 2.75 +/- 5.71 years in C2009/B- patients VS 2.29 +/- 4.38 and 2.33 +/- 3.29 in C2007 and C2009/B+ ( $p = 0.2$ ). Early transfusion happened more often in the C2009/B- group: 43% vs 26% for C2007 and 21% for

C2009/B+ ( $p < 0.001$ ). The prevalence of diabetes was similar in the 3 groups: 10% for C2007 and 14% for C2009/B+ and C2009/B- ( $p = 0.46$ ). In term of arterial hypertension, C2009/B- had the lowest rate (66%), followed by C2009/B+ (70%) and C2007 (78%) ( $p = 0.03$ ). The induction immunosuppressive therapy was different between groups: 87% of C2009/B- recipients received ATG as induction therapy, while 93% of C2007 and 82% of C2009/B+ did receive ATG ( $p = 0.003$ ).

Table A: Recipients characteristics

\	\	All	C2007 <sup>1</sup>	C2009/B- <sup>2</sup>	C2009/B+ <sup>3</sup>
<i>Recipients Age (y)</i>	<i>Median</i>	53.7	52.50	59.40	52.60
	<i>Sd</i>	14.0	14.56	12.51	13.91
<i>Donors Age (y)</i>	<i>Median</i>	53.0	49.00	60.00	53.00
	<i>Sd</i>	15.9	16.59	15.00	15.48
<i>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</i>	<i>Median</i>	24.0	23.80	23.90	24.20
	<i>Sd</i>	4.56	4.08	4.22	4.90
<i>Dialysis time prior to KTx (y)</i>	<i>Median</i>	2.29	2.03	2.75	2.33
	<i>Sd</i>	4.38	5.14	5.71	3.29
<i>Steroids when living center (mg)</i>	<i>Median</i>	10.0	10.00	10.00	10.00
	<i>Sd</i>	10.2	4.85	5.75	12.93
			Cohort		
\	\	All	C2007	C2009/B-	C2009/B+
<i>presensitization</i>	<i>pre-tr. HSA-</i>	454	131	73	250
	<i>pre-tr. HSA+ (%)</i>	159	40 (23)	36 (32)	83 (25)
<i>Early Transfusion</i>	<i>No early RBC</i>	450	125	61	264
	<i>Early RBC+ (%)</i>	163	46 (26)	48 (43)	69 (21)
<i>ATG<sup>4</sup></i>	<i>No ATG</i>	85	12	14	59
	<i>ATG (%)</i>	530	159 (93)	95 (87)	276(82)
<i>Diabetes</i>	<i>No diabetes</i>	532	153	93	286
	<i>Diabetes + (%)</i>	81	18 (10)	16 (14)	47 (14)
<i>HBP<sup>5</sup></i>	<i>No HBP</i>	170	35	36	99
	<i>HBP + (%)</i>	443	136 (78)	73 (66)	234 (70)

<sup>1</sup>C2007 mean KTx recipients between January 2007 and December 2008, no systematic biopsy during this period <sup>2,3</sup>C2009/B- mean KTx recipients between January 2009 and December 2013, with no systematic biopsies <sup>3</sup>C2009/B+ mean KTx recipients between January 2009 and December 2013, with systematic biopsies <sup>4</sup>ATG : Anti-thymoglobulin <sup>5</sup>HBP: High Blood pressure

## **4.2.2. Biopsies characteristics: Banff classification and chronic lesions**

### **4.2.2.1. Banff Classification**

Among the exploitable biopsies, 217 (65%) were accurate, 91(27%) were “limit”, and 25 (8%) not accurate.

Concerning the Banff Classification categories, 212 (64%) biopsies were considered normal (class I), 88 (26%) had some level of IF/TA lesions (class V), 24 (7%) had subclinical immunological lesions (20 class III, and 4 class IV), 9 (3%) recipients had a class VI biopsy. Seven biopsies were class V associated with another lesion, either immunological (class II, III or IV, 5 recipients) or non-immunological (2 recipients, class VI). Among the class VI biopsies, 5 showed a relapsing nephropathy (2 IgA, 1 membranous nephropathy (MN), 1 membranoproliferative glomerulonephritis (MPGN), 1 sarcoidosis), 2 showed a *de novo* BKV nephropathy, one showed an acute CNI toxicity and one showed signs of pyelonephritis.

It must be noted that SCR have been heterogeneously managed after the initial biopsy. For borderline lesions, all patients remained on steroids, 7 were treated by high dose steroids pulses. Eleven had a control biopsy, with 4 persisting borderline lesions, 2 T-cell mediated rejection (TCMR) grade 1A. For the class IV biopsies, all patients responded adequately to high dose steroid pulses, with only 1 graft loss at year 4 for a recipient with persisting TCMR lesions on the control biopsy in 2013.

#### 4.2.2.2. Chronic lesions

As described above, 87 recipients had some level of IF/TA on their systematic M3 biopsy. Among them, only one biopsy had IF/TA 3 lesions, 16 biopsies had IF/TA 2 lesions and 70 had IF/TA 1 lesions. A total of 146 biopsies showed cv lesions, with 5 cv3, 22 cv2 and 120 cv1 lesions. 101 biopsies had ah lesions, 85 ah1, 14 ah2 et 2 ah3. When considering chronic glomeruli lesions, no biopsy showed stigma of chronic allograft glomerulopathy (cg), 13 biopsies had mm lesions (9 mm1, 2 mm2, 2 mm3 lesions) (Figure b).

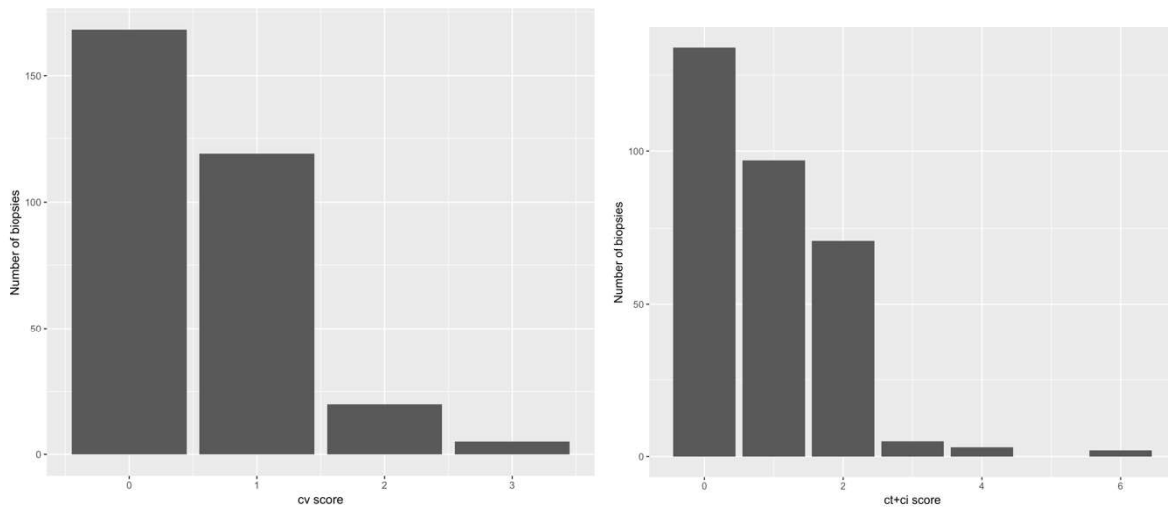


Figure b Barplot of chronic lesions (cv, IF/AT)

Concerning the ci+ct score, the 5 year-DCGS was similar with  $ci+ct \leq 4$ , but patients with a score of 5 or 6 had the worst survival (Supplementary material (SM1)). As expected, there is however a low number of patients with  $ci+ct > 3$ . For cv lesions, patients with cv2 and cv3 lesions had the worst 5 year-DSGS (SM2). There was no statistical difference in terms of DCGS for ah and mm lesions.

### 4.2.3. Propensity score coefficients

As described in table B, the variables most correlated with an odd of having a biopsy were: recipients age (-2.452,  $p = 0.014$ ), graft rank (-3.47,  $p < 0.001$ ), early RBC transfusion (-3.393,  $p < 0.001$ ) and DGF (-3.2,  $p = 0.001$ ). To summarize, older recipients, with a second or a third graft, delayed graft function and receiving an early RBC transfusion (within the first 3 months) had the lowest probability of undergoing a systematic biopsy.

*Table B: PS coefficients*

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z )
<b>(Intercept)</b>	1.749	0.1738	10.06	<0.001
<b>Recipient age (years)</b>	-0.03636	0.01483	-2.452	0.014
<b>Donor age (years)</b>	0.001077	0.01229	0.08763	0.93
<b>Graft Rank</b>	-0.8965	0.2584	-3.47	<0.001
<b>Early RBC transfusion (yes/no)</b>	-0.8777	0.2587	-3.393	<0.001
<b>Preimmunization (yes/no)</b>	0.1248	0.3052	0.4089	0.68
<b>Delayed graft function (yes/no)</b>	-1.178	0.3683	-3.197	0.001
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	0.0266	0.02702	0.9845	0.32

#### **4.2.4. 5 years DCGS rate with or without biopsies**

Overall, the 5 years DCGS was excellent with a 90.6% survival. When compared between groups, the 5 year-DCGS was 73.4% in 2009/B- recipients, 95.5% in 2009/B+ and 91,2% in the C2007 cohort.

The primary endpoint was the 5 year-DCGS with or without biopsy while taking into account the PS. Four groups were defined, based on the systematic biopsy (underwent or not) and the propensity score (at a threshold of 0.75). There was a significant survival difference between the four groups (logrank test,  $p < 0.0001$ ). The recipients who did undergo a systematic a biopsy and had a high PS ( $> 0.75$ ) had the best survival (97%). The non-biopsied recipients with a low PS ( $< 0.75$ ) had the worst survival (83.9%). Interestingly, the 2 last groups (no systematic biopsy/high PS, systematic biopsy/low PS) had a similar survival (91.1% and 92.1%, respectively).

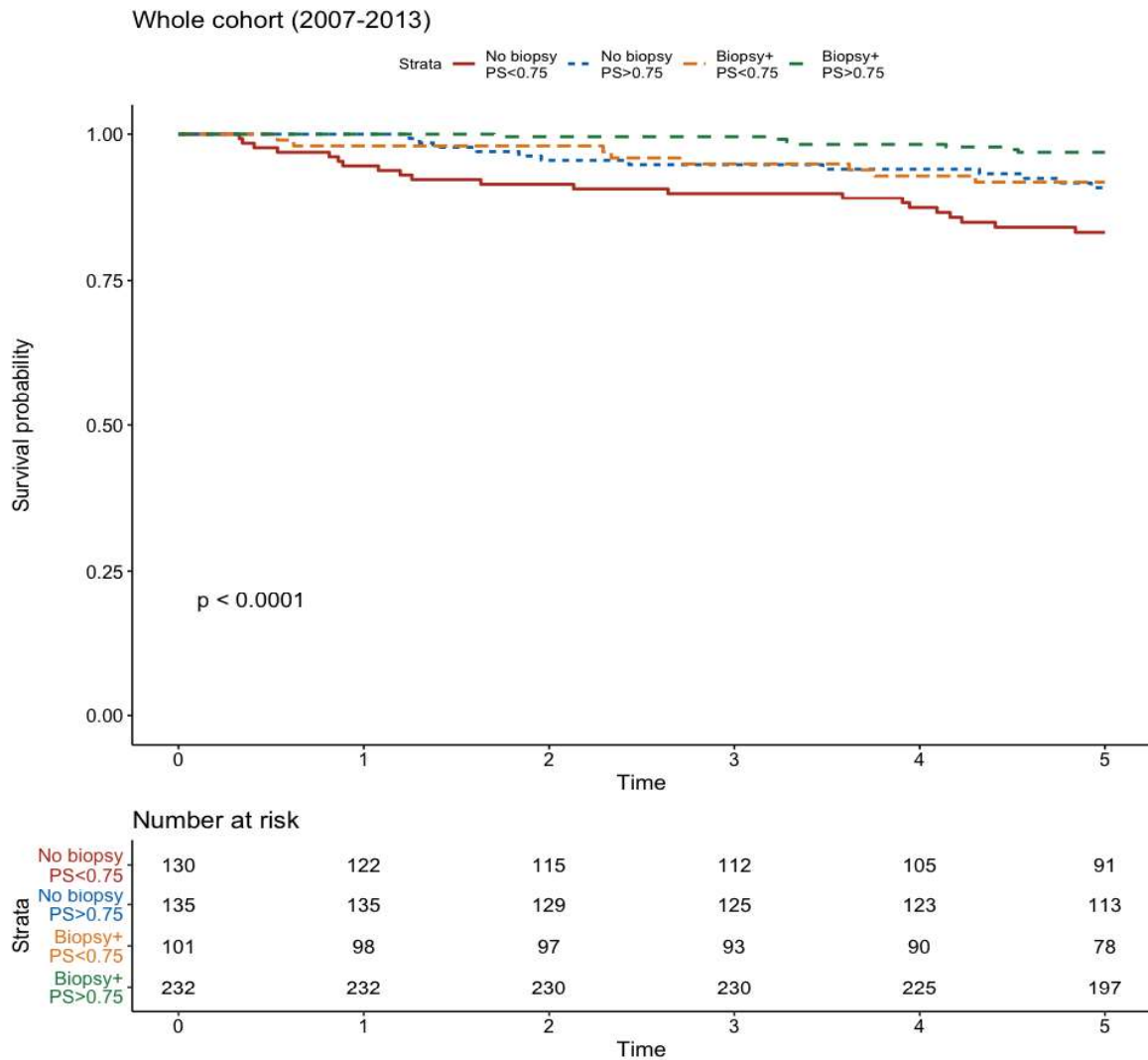


Figure c: 5 years death censored graft survival recipients from 2007 to 2013 (Biopsy yes/no, PS > 0.75)

The same results were obtained when focusing on the 2009-2013 cohort only, with the same 4 groups structure. Three different DGCS trajectories could be distinguished, with the same grouping structure (supplementary material 3).

We also considered the effect of steroid withdrawal guided by biopsy or not. Overall, 154 recipients had a steroid withdrawal at 3 months after KTx. Among them, only two patients lost their graft during follow up, precluding any significant conclusion.



#### 4.2.5. 5 years GFR decline rate with or without biopsies

Concerning GFR at 5 years post-KTx, having a biopsy was associated with a better kidney function (Figure D). Recipients from the C2009/B+ cohort had the best 5 year GFR (51.9 ml/min/1.73m<sup>2</sup>), followed by C2007 recipients (46.2 ml/min/1.73m<sup>2</sup>) and C2009/B- recipients (44 ml/min/1.73m<sup>2</sup>).

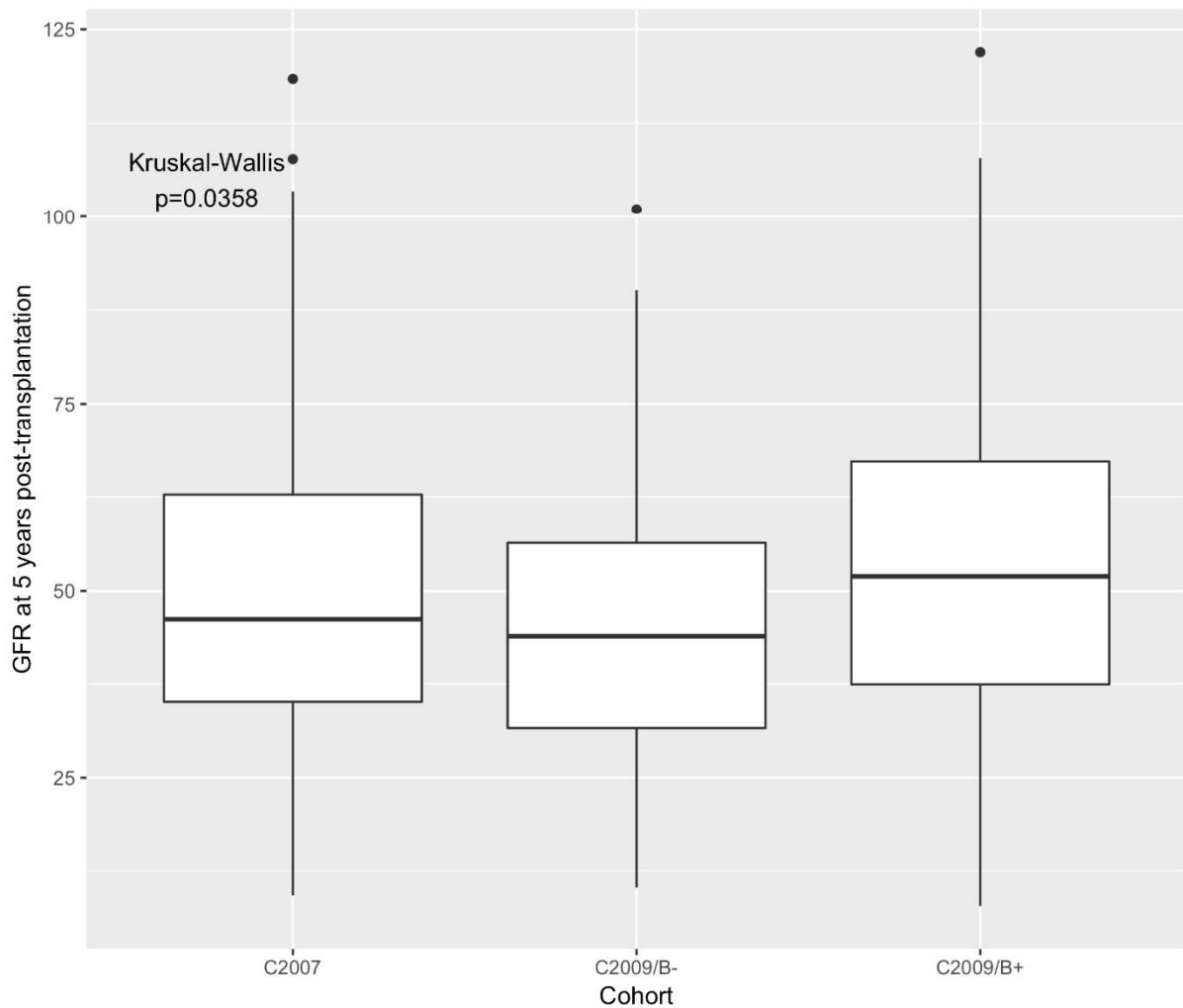


Figure d: 5 years GFR comparison for the 3 different cohorts (CKD-EPI, ml/min/1.73m<sup>2</sup>)

### 4.3. Discussion

In this study, we compared the 5 year DCGS according to the availability of a systematic M3 kidney biopsy, accounting for patients' comorbidities through a propensity score. We show that performing a M3 SKB was associated with a better graft survival, independently of potential confounding factors as assessed by the propensity score.

To the best of our knowledge, this is the first time this added value of a systematic biopsy is shown, for recipients treated with an immunosuppressive regimen based on tacrolimus.

In a 1998 randomized controlled study (randomizing the systematic biopsy), the Winnipeg team showed that patients undergoing a systematic biopsy had a smaller rate of short term (2-3 months) and long term (7-12 months) acute graft rejection, lower score of chronic interstitial and tubular lesions at M6 and most importantly a better kidney function at M12, than patients not having a systematic biopsy<sup>24</sup>. More recently, in 2007, Kurtkoti *et al.* published a randomized controlled study on recipients with living donors. A total of 52 recipients had a M3 systematic biopsy and 50 did not. The two groups had the same rate of acute rejection during the first-year post-transplantation, but the kidney function was better in the systematic biopsy group, both at M6 ( $p = 0.0003$ ) and M12 ( $p < 0.0001$ )<sup>25</sup>.

In both previous studies, patients received a ciclosporine-based immunosuppression. Our results extend this finding to a tacrolimus-based immunosuppression. It also gives a longer-term picture, over 5 years, and focuses on the most stringent DCGS. One may argue that protocol biopsies are associated with unworthy potential risks. Protocol biopsies are indeed not routinely performed universally. A recent survey of

US programs found that only 17% of the centers perform protocol biopsies routinely on all recipients, whereas others reserve protocol biopsies to higher risk patients<sup>26</sup>. However, the fear of a biopsy complication seems to be irrelevant. In a review by Wilczek<sup>27</sup>, there was no graft lost when the biopsy was performed at least one month after KTx. In 2016, Morgan TA *et al.* showed that a systematic biopsy had a lower risk of complications than for-cause biopsies (2.7% vs. 0.33%,  $p < 0.001$ ). The largest retrospective audit of a total of 2,127 adult kidney allograft biopsies assessed major complications, with 1,486 biopsies assessed for minor complications, in four major transplant centers in Europe<sup>28</sup>. There was no death. One graft was lost, under circumstances indicating that the loss could have been prevented. Three episodes of hemorrhage required a direct intervention. Another prospective study from 2005 included 1,171 protocol biopsies performed in 508 patients at 6, 12, and 26 weeks after transplantation. It also showed that the benefits of protocol biopsies outweigh the risks, with an acceptable complication rate<sup>29</sup>.

In our analysis, by performing biopsies in patients with normal stable graft function, we were able to detect incident sub-clinical rejections and unsuspected lesions (e.g., chronicity, CNI toxicity, recurrent or *de novo* glomerulopathy, BK virus nephropathy, and asymptomatic urinary tract infections). Evidences for these histological lesions were found in 33 patients (10%). We observed 24 (7%) cases of SCR. The rate of SCR is slightly lower than the rate observed in other studies describing SCR on M3 systematic biopsies from recipients treated by tacrolimus: Gloor *et al.* in 2002 found 2.6% of s-TCMR and 11% of borderline lesions<sup>30</sup>, Moreso *et al.* in 2004 4.2 and 10%<sup>31</sup>, and Mheta *et al.* in 2006, 4 and 11%<sup>32</sup>. A multicenter prospective study in the current era of immunosuppression would be useful to identify the risk variables associated with SCR. Confounding and interacting variables, such as cold ischemia

time and delayed graft function (DGF), may play a significant role in the occurrence of SCR.

The accurate management of these recipients, by taking care of a recurrent nephropathy, treating a rejection or avoiding steroid withdrawal could explain the beneficial effect of the systematic biopsy on DCGS.

As noted in the result section, SCR have been heterogeneously managed and treated after the initial biopsy. Most recipients had a good outcome. Indeed, among the 24 patients with SCR, only 1 recipient had TCMR on a control biopsy and only one graft loss was recorded during follow up.

Another explanation for the beneficial effect of the SKB could be a better management of the steroid withdrawal: biopsy-guided steroid withdrawal would be beneficial, allowing to refrain from stopping steroids in some cases. In this study we fail to prove this effect because of a low number of patients who actually stopped steroids and a very low number of graft losses in this population. It is possible that SGB allowed to avoid some undesired steroid withdrawals and de facto increase graft survival. Several studies showed the safety of steroids withdrawal in cases of normal histological findings on the M3 SGB. In 2003, Gotti *et al.* studied KTx on steroid, cyclosporine (CsA), and azathioprine randomized to per-protocol biopsy ( $n = 30$ ) or no-biopsy ( $n = 29$ ) 1 to 2 yr post-transplant. Steroids were withdrawn on the basis of histology findings, to evaluate the effects of such withdrawal on drug-related complications, acute rejection, and graft function over a 3-years follow-up. After 3 years, patients underwent a second biopsy. Per-protocol biopsy histology revealed no lesion in only 5 patients for whom steroids were discontinued. Reducing the drug regimen led to overall fewer side effects related to immunosuppression as compared

with standard therapy or no-biopsy. Steroids were safely discontinued with no acute rejection or graft loss<sup>33</sup>. In a more recent study, Wehmeier C *et al.* analyzed 156 pretransplant DSA-negative renal transplants receiving basiliximab induction and maintenance immunosuppression with tacrolimus, mycophenolate and steroids. The absence of rejection in surveillance biopsies at 3 or 6 months post-transplant initiated steroid withdrawal. In the whole study population, successful steroid withdrawal was achieved in 73 of 156 patients (47%). Steroid withdrawal was initiated in 98 of 156 patients (63%) and successful in 73 of 98 patients (74%). A subsequent clinical rejection event occurred in only one out of 98 patients (1%), whereas 24 out of 98 patients (24%) experienced a subclinical rejection phenomenon. The authors conclude that successful steroid withdrawal cannot be well predicted by pre- and early post-transplant parameters and that guidance by a systematic surveillance biopsy is an interesting strategy<sup>34</sup>. These findings are important, given the fact that steroid withdrawal unguided by a biopsy may be a risk factor for early graft loss. Indeed, Haler *et al.* showed in a retrospective cohort that steroid withdrawal within 18 months after transplantation was associated with an increased rate of graft loss compared to steroid maintenance<sup>35</sup>.

There is currently no alternative to systematic biopsy in order to track SCR, or *de novo* and recurrent nephropathy. Moreover, systematic biopsies can show chronic lesions that help predict the future GFR decline. In our study we showed that recipients with the most deleterious lesions in term of DCGS was  $cv > 1$  and  $ci + ct > 4$ . In 2016 Cosio *et al.* showed that mild to moderate IF/TA, i-IF/TA, and cg and t lesions had a significant correlation with a poor DCGS compared to patients with normal to minor histological changes<sup>36</sup>. Recently, in a cohort of 992 recipients, Simphal *et al.*

showed that a ci+ct score > 2 and a ah score = 3 was associated with a higher risk of 5 year graft loss<sup>37</sup>.

These findings are useful to screen efficiently recipients who require an extra attention. In the group of patients with the highest risk of graft lost due to chronic lesions, an immunosuppressive strategy with a minimal reliance on calcineurin inhibitors could be useful. Such strategies include everolimus with low dose tacrolimus<sup>38</sup> or tacrolimus withdrawal and a switch to belatacept<sup>39</sup>.

In terms of 5 year DCGS, we can distinguish 3 different trajectories. The biopsied patients with a high PS had the best survival, non-biopsied with low PS had the worst one. Lying in-between are the DCGS of biopsied recipients with a low PS and non-biopsied recipients with high PS. These results emphasize the interest of the SKB for all the patients and especially those with a high level of comorbidities.

One weakness of this study is its retrospective character which we took into account by adjusting for a propensity score (of undergoing a systematic biopsy). This gave us the possibility to compare survivals between the biopsy and the no-biopsy groups. The PS is known to be a good alternative method for the analysis of non-randomized intervention trials. Nonetheless, the propensity score method can only adjust for known confounding factors that have actually been measured. Equal distributions of unknown confounding factors can be achieved only in randomized controlled trials<sup>40</sup>.

Another issue is that our work is monocentric: our results still have to be checked on an external validation cohort.

#### **4.4. Conclusion**

In this study, we show a clear beneficial impact of the M3 SKB on 5 year DCGS while accounting for obvious biases through a PS. Interestingly, the beneficial impact is larger for the most comorbid recipients for which we routinely avoid biopsy. Therefore, we should perform a SGB every time there is no formal contraindication. Moreover, SKB could be a great tool to decide to discontinue steroids or not. Finally, SKB may lead to adaptation of the immunosuppressive regimen in cases of chronic lesions such as FIAT > 1 or cv>1.

## 4.5. References

1. World Kidney Day: Chronic Kidney Disease. 2015; <http://www.worldkidneyday.org/faqs/chronic-kidney-disease/> .
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. 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.
6. Chapman JR. What are the key challenges we face in kidney transplantation today? *Transplant Res* 2013;2:S1.
7. 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.
8. Legendre, E. Thervet, H. Skhiri *et al.*, "Histologic features of chronic allograft nephropathy revealed by protocol biopsies in kidney transplant recipients," *Transplantation Journal*, vol. 65, no. 11, pp. 1506–1509, 1998.
9. B. J. Nankivell, R. J. Borrows, C. L.-S. Fung, P. J. O'Connell, R. D. M. Allen, and J. R. Chapman, "Natural history, risk factors, and impact of subclinical rejection in kidney transplantation.," *Transplantation*, vol. 78, no. 2, pp. 242–249, 2004.
10. B. J. Nankivell, C. A. Fenton-Lee, D. R. Kuypers, E. Cheung, and R. D. Allen, "Effect of histological damage on long-term kidney transplant outcome," *Transplantation*, vol. 71, no. 4, pp. 515–523, 2001.
11. D. N. Rush, J. R. Jeffery, and J. Gough, "Sequential protocol biopsies in renal transplant patients," *Transplantation*, vol. 59, no. 4, pp. 511–514, 1995.
12. M. S. Anil Kumar, M. Irfan Saeed, K. Ranganna *et al.*, "Comparison of four different immunosuppression protocols without long-term steroid therapy in kidney recipients monitored by surveillance biopsy: Five-year outcomes," *Transplant Immunology*, vol. 20, no. 1-2, pp. 32–42, 2008.
13. B. S. Choi, M. J. Shin, S. J. Shin *et al.*, "Clinical significance of an early protocol biopsy in living-donor renal transplantation: ten-year experience at a

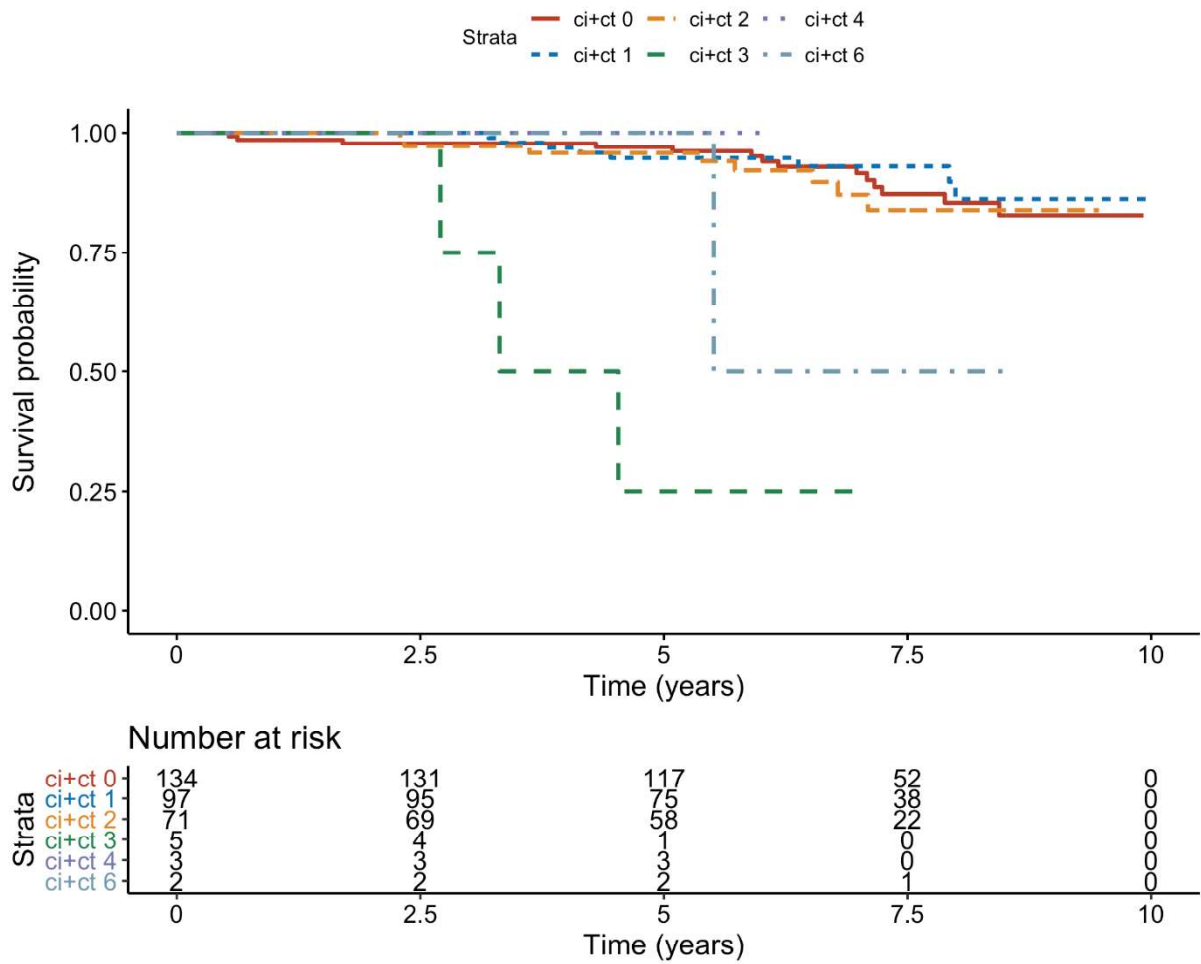


- single center,” *American Journal of Transplantation*, vol. 5, no. 6, pp. 1354–1360, 2005.
14. B. J. Nankivell and J. R. Chapman, “The significance of subclinical rejection and the value of protocol biopsies,” *American Journal of Transplantation*, vol. 6, no. 9, pp. 2006–2012, 2006.
  15. M. Mengel, J. R. Chapman, F. G. Cosio *et al.*, “Protocol biopsies in renal transplantation: insights into patient management and pathogenesis,” *American Journal of Transplantation*, vol. 7, no. 3, pp. 512–517, 2007.
  16. T. N. Buchmann, T. Wolff, A. Bachmann *et al.*, “Repeat true surveillance biopsies in kidney transplantation,” *Transplantation Journal*, vol. 93, no. 9, pp. 908–913, 2012.
  17. A. Wilkinson, “Protocol transplant biopsies: are they really needed?” *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 1, no. 1, pp. 130–137, 2006.
  18. Y. Huang and E. Farkash, “Protocol biopsies: utility and limitations,” *Advances in Chronic Kidney Disease*, vol. 23, no. 5, pp. 326–331, 2016.
  19. L. K. Henderson, B. J. Nankivell, and J. R. Chapman, “Surveillance Protocol Kidney Transplant Biopsies: Their Evolving Role in Clinical Practice,” *American Journal of Transplantation*, vol. 11, no. 8, pp. 1570–1575, 2011.
  20. Y. Mao, J. Chen, Z. Shou, J. Wu, H. Wang, and Q. He, “Clinical significance of protocol biopsy at one month posttransplantation in deceased-donor renal transplantation,” *Transplant Immunology*, vol. 17, no. 3, pp. 211–214, 2007.
  21. T. Tanabe, “The value of long-term protocol biopsies after kidney transplantation,” *Nephrology*, vol. 19, supplement 3, pp. 2–5, 2014.
  22. Andrassy KM. Comments on “KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease.” *Kidney Int.* 2013; 84: 622-3.
  23. 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.
  24. Rush DN, Nickerson P, Jeffery JR *et al.* Protocol biopsies in renal transplantation: research tool or clinically useful? *Cur Opin Nephrol Hypertens*, 1998, 7, 691-694.
  25. Kurtkoti J, Sakhuja V, Sud K *et al.* The utility of 1- and 3-month protocol biopsies on renal allograft function: a randomized controlled study. *Am J Transplant.* 2008 Feb;8(2):317-23.
  26. A. Schwarz, W. Gwinner, M. Hiss, J. Radermacher, M. Mengel, and H. Haller, “Safety and adequacy of renal transplant protocol biopsies,” *American Journal of Transplantation*, vol. 5, no. 8, pp. 1992–1996, 2005.

27. Wilczek HE. Percutaneous needle biopsy of the renal allograft. A clinical safety evaluation of 1129 biopsies. *Transplantation*. 1990 Nov;50(5):790-7.
28. P.N.Furness, C.M.Philpott, M.T.Chorbadjian *et al.*, "Protocol biopsy of the stable renal transplant: a multicenter study of methods and complication rates," *Transplantation*, vol.76, no.6, pp.969–973, 2003
29. Morgan TA, S, Burger IM *et al.*, Complications of Ultrasound-Guided Renal Transplant Biopsies. *Am J Transplant*. 2016 Apr;16(4):1298-305.
30. Gloor JM, Cohen AJ, Lager DJ, *et al.* Subclinical rejection intacrolimus-treated renal transplant recipients. *Transplantation*. 2002;73(12):1965-1968.
31. F. Moreso, D. Seron, M. Carrera, *et al.* Baseline immunosuppression is associated with histological findings in early protocol biopsies *Transplantation*, 78 (7) (2004), pp. 1064-10687.
32. Mehta R1, Sood P, Hariharan S. Subclinical Rejection in Renal Transplantation: Reappraised. *Transplantation*. 2016 Aug;100(8):1610-8.
33. Gotti E, Perico N, Perna A, *et al.* Renal transplantation: can we reduce calcineurin inhibitor/stop steroids? Evidence based on protocol biopsy findings.
34. Wehmeier C, Hirt-Minkowski P, Amico P *et al.* Successful steroid withdrawal guided by surveillance biopsies-A single-center experience. *Clin Transplant*. 2018 Mar;32(3):e13181
35. Maria C. Haller, Michael Kammer, Alexander Kainz Steroids and ciclosporin withdrawal after renal transplantation: a retrospective cohort study. *BMC Med*. 2017; 15: 8.
36. Cosio FG, El Ters M, Cornell LD *et al.* Changing Kidney Allograft Histology Early Posttransplant: Prognostic Implications of 1-Year Protocol Biopsies. *Am J Transplant*. 2016 Jan;16(1):194-203.
37. P.Simphal<sup>1</sup>A.Lionet<sup>1</sup>J.B.Gibier<sup>2</sup> *et al.* Y-a-t-il un intérêt à réaliser une ponction biopsie rénale protocolaire à 3 mois après transplantation rénale ? 2018 *Néphrologie et thérapeutique*
38. Nanmoku K, Kurosawa A, Kubo T *et al.* Effective and Safe Reduction of Conventional Immunosuppressants Using Everolimus in Maintenance Kidney Transplant Recipients. *Transplant Proc*. 2017 Oct;49(8):1724-1728. doi: 10.1016
39. Wojciechowski D, Chandran S, Vincenti F *et al.* Early post-transplant conversion from tacrolimus to belatacept for prolonged delayed graft function improves renal function in kidney transplant recipients. *Clin Transplant*. 2017 May;31(5).

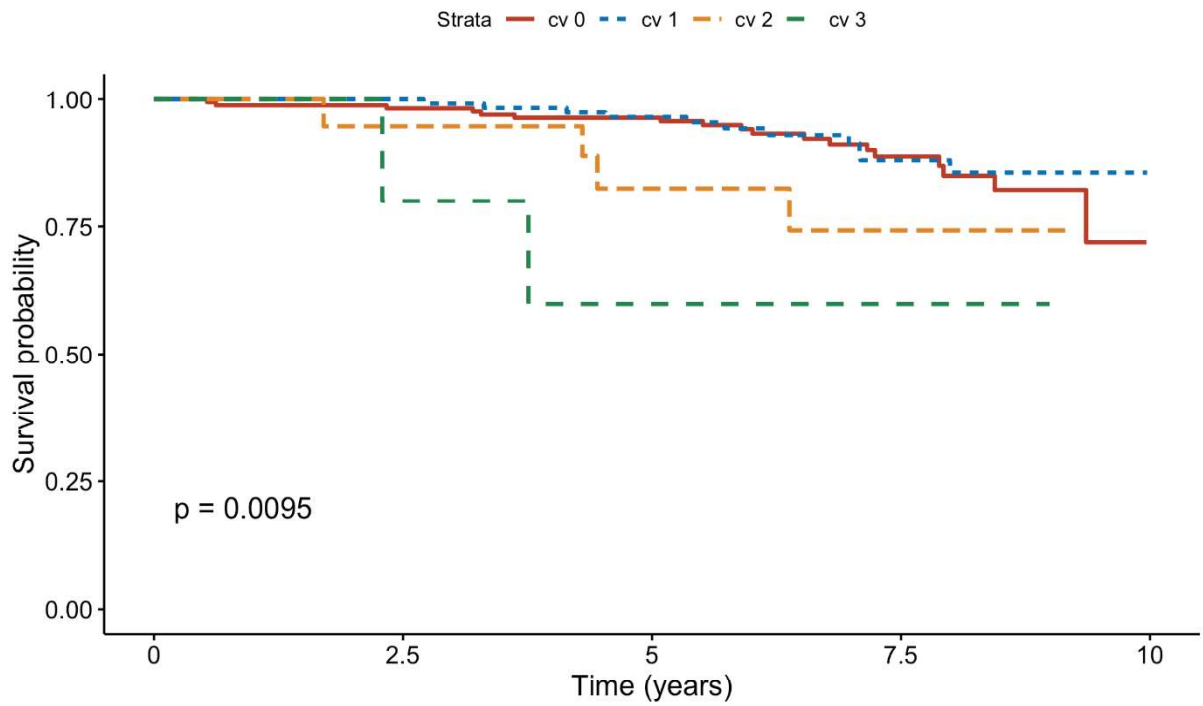
40. Kuss O, Blettner M, Börgermann J. Propensity Score: an Alternative Method of Analyzing Treatment Effects. Dtsch Arztebl Int. 2016 Sep 5;113(35-36):597-603.

## 5. Supplementary Material



SM 1: Graft survival with respect to ci and ct lesions

### Survival with respect to cv lesions



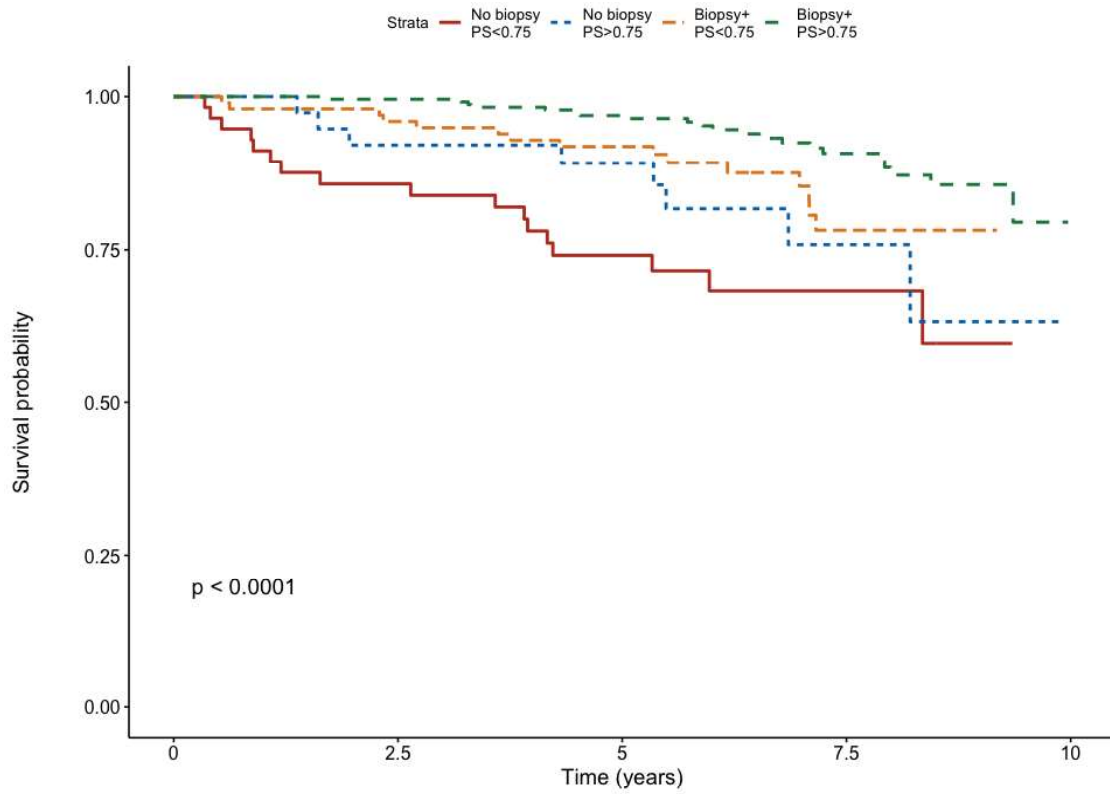
Number at risk

Strata	0	2.5	5	7.5	10
cv 0	168	164	145	62	0
cv 1	119	118	96	46	0
cv 2	20	18	13	5	0
cv 3	5	4	2	1	0

Time (years)

*SM 2: Graft survival with respect to cv lesions*

2009 cohort only



Number at risk

Strata	0	2.5	5	7.5	10
No biopsy PS<0.75	57	46	30	13	0
No biopsy PS>0.75	38	35	27	10	0
Biopsy+ PS<0.75	101	94	78	30	0
Biopsy+ PS>0.75	232	230	197	92	0

SM 3: graft survival for the 2009 cohort (Biopsy yes/no, PS > 0.75)

**THÈSE SOUTENUE PAR : Florian TERREC**

**TITRE :**

**Biopsies systématiques de patients transplantés rénaux *de novo* à 3 mois post-chirurgie : impact sur la survie du greffon à 5 ans (SABRE)**

**CONCLUSION :**

**Introduction :** Dans beaucoup de centres de greffe rénale, une biopsie rénale systématique (BRS) est réalisée à 3 mois post-greffe (M3), sans bénéfice démontré sur la survie du greffon censurée par le décès (DCGS). La DCGS dépend de nombreuses variables qui sont de potentiels biais, spécialement chez les patients fragiles. Dans cette étude, nous comparons la DCGS entre les patients bénéficiant d'une BRS ou non, en prenant en compte ces biais.

**Patients et Méthodes :** Dans cette étude monocentrique menée de Janvier 2007 à Décembre 2013, nous avons inclus les patients transplantés rénaux *de novo* avec une survie minimum de 3 mois, ayant bénéficié ou non d'une BRS. Les BRS ont été débutées en 2009. Nous avons construit un score de propension (PS) de probabilités d'avoir une BRS. Le critère de jugement principal était la DCGS à 5 ans, avec ou sans BRS, rapporté au PS (seuil à 0,75)

**Résultats :** Un total de 660 patients a été inclus : 333 ont bénéficié d'une BRS, 286 n'en n'ont pas eu (dont 175 avant 2009). Dans un modèle de survie de Kaplan-Meier bivarié, une BRS à M3 est associée une meilleure DCGS à 5 ans, indépendamment du PS ( $p < 0,001$ ). 3 groupes peuvent être distingués : les patients avec une BRS et un  $PS > 0,75$  avait la meilleure DCGS et les patients sans BRS et un  $PS < 0,75$  avait la moins bonne DCGS. Les autres patients avaient une DCGS intermédiaire.

**Conclusion :** Une BRS à M3 est associée à un bénéfice de survie du greffon indépendamment des comorbidités évaluées par le PS. Ces résultats s'expliquent par une prise en charge plus précoce des événements immunologiques infracliniques. On peut également supposer une meilleure gestion de l'immunosuppression et de l'arrêt des stéroïdes

**VU ET PERMIS D'IMPRIMER**

Grenoble, le : 21/10/13

**LE DOYEN**

Pr. Patrice MORAND

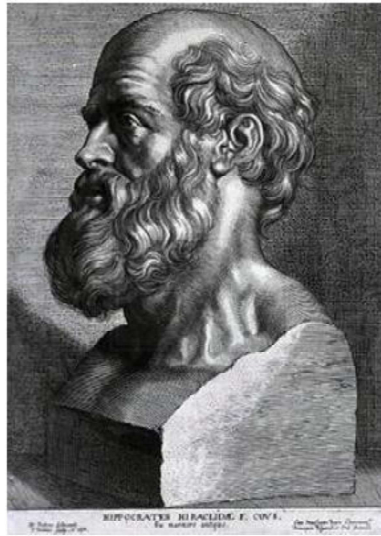
Pour le Président  
et par délégation  
—  
Le Doyen de Médecine  
Pr. Patrice MORAND

**LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE**

Pr. Lionel ROSTAING



20/10/13



## **SERMENT D'HIPPOCRATE**

*En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'HIPPOCRATE,*

*Je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.*

*Je donnerai mes soins gratuitement à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au dessus de mon travail. Je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.*

*Admis dans l'intimité des maisons, mes yeux n'y verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.*

*Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.*

*Je garderai le respect absolu de la vie humaine.*

*Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.*

*Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.*

*Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.*

*Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.*