

Académie d'Orléans –Tours
Université François-Rabelais
FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

Année 2012

N°

Thèse

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'Etat

Par

GHOUTI-TERKI Lila

Née le 06 juin 1984 à Paris 14^e (75)

Présentée et soutenue publiquement le 21/09/2012

**Rejet humoral chronique actif associé à des lésions inflammatoires de
la microcirculation du greffon rénal : caractéristiques et évolution**

Jury

Président de Jury : Monsieur le Professeur LEBRANCHU

Membres du jury : Monsieur le Professeur HALIMI

Monsieur le Professeur BUCHLER

Monsieur le Docteur GATAULT

Madame le Docteur MAGDELAINE

UNIVERSITE FRANCOIS RABELAIS

FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

DOYEN

Professeur Dominique PERROTIN

VICE-DOYEN

Professeur Daniel ALISON

ASSESEURS

Professeur Christian ANDRES, Recherche

Docteur Brigitte ARBEILLE, Moyens

Professeur Christian BINET, Formation Médicale Continue

Professeur Laurent BRUNEREAU, Pédagogie

Professeur Patrice DIOT, Recherche clinique

SECRETAIRE GENERALE

Madame Fanny BOBLETER

DOYENS HONORAIRES

Professeur Emile ARON (†) – 1962-1966

Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962

Professeur Georges DESBUQUOIS (†)- 1966-1972

Professeur André GOUAZÉ - 1972-1994

Professeur Jean-Claude ROLLAND – 1994-2004

PROFESSEURS EMERITES

Professeur Alain AUTRET

Professeur Jean-Claude BESNARD

Professeur Patrick CHOUTET

Professeur Guy GINIES

Professeur Olivier LE FLOCH

Professeur Chantal MAURAGE

Professeur Léandre POURCELOT

Professeur Michel ROBERT

Professeur Jean-Claude ROLLAND

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. Ph. ANTHONIOZ - A. AUDURIER – Ph. BAGROS - G. BALLON – P.BARDOS - J. BARSOTTI
A. BENATRE - Ch. BERGER –J. BRIZON - Mme M. BROCHIER - Ph. BURDIN - L. CASTELLANI
J.P. FAUCHIER - B. GRENIER – M. JAN –P. JOBARD - J.-P. LAMAGNERE - F. LAMISSE – J. LANSAC
J. LAUGIER - G. LELORD - G. LEROY - Y. LHUINTRE - M. MAILLET - Mlle C. MERCIER - E/H.
METMAN
J. MOLINE - Cl. MORAINÉ - H. MOURAY - J.P. MUH - J. MURAT - Mme T. PLANIOL - Ph. RAYNAUD
Ch. ROSSAZZA - Ph. ROULEAU - A. SAINDELLE - J.J. SANTINI - D. SAUVAGE - M.J. THARANNE
J. THOUVENOT - B. TOUMIEUX - J. WEILL.

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

MM.	ALISON Daniel	Radiologie et Imagerie médicale
	ANDRES Christian	Biochimie et Biologie moléculaire
	ARBEILLE Philippe	Biophysique et Médecine nucléaire
	AUPART Michel	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
Mme	AUTRET-LECA Elisabeth	Pharmacologie fondamentale ; Pharmacologie clinique
MM.	BABUTY Dominique	Cardiologie
Mmes	BARILLOT Isabelle	Cancérologie ; Radiothérapie
	BARTHELEMY Catherine	Physiologie
MM.	BAULIEU Jean-Louis	Biophysique et Médecine nucléaire
	BERNARD Louis	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
	BEUTTER Patrice	Oto-Rhino-Laryngologie
	BINET Christian	Hématologie ; Transfusion
	BODY Gilles	Gynécologie et Obstétrique
	BONNARD Christian	Chirurgie infantile
	BONNET Pierre	Physiologie
Mme	BONNET-BRILHAULT Frédérique	Physiologie
MM.	BOUGNOUX Philippe	Cancérologie ; Radiothérapie
	BRUNEREAU Laurent	Radiologie et Imagerie médicale
	BUCHLER Matthias	Néphrologie
	CALAIS Gilles	Cancérologie ; Radiothérapie
	CAMUS Vincent	Psychiatrie d'adultes
	CHANDENIER Jacques	Parasitologie et Mycologie
	CHANTEPIE Alain	Pédiatrie
	CHARBONNIER Bernard	Cardiologie
	COLOMBAT Philippe	Hématologie ; Transfusion
	CONSTANS Thierry	Médecine interne ; Gériatrie et Biologie du vieillissement
	CORCIA Philippe	Neurologie
	COSNAY Pierre	Cardiologie
	COTTIER Jean-Philippe	Radiologie et Imagerie médicale
	COUET Charles	Nutrition
	DANQUECHIN DORVAL Etienne	Gastroentérologie ; Hépatologie
	DE LA LANDE DE CALAN Loïc	Chirurgie digestive
	DE TOFFOL Bertrand	Neurologie
	DEQUIN Pierre-François	Thérapeutique ; médecine d'urgence
	DESTRIEUX Christophe	Anatomie
	DIOT Patrice	Pneumologie
	DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague	
	DUMONT Pascal	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
	FAUCHIER Laurent	Cardiologie
	FAVARD Luc	Chirurgie orthopédique et traumatologique
	FETISSOF Franck	Anatomie et Cytologie pathologiques
	FOUQUET Bernard	Médecine physique et de Réadaptation
	FRANCOIS Patrick	Neurochirurgie
	FUSCIARDI Jacques	Anesthésiologie et Réanimation chirurgicale ; médecine d'urgence
	GAILLARD Philippe	Psychiatrie d'Adultes
	GOGA Dominique	Chirurgie maxillo-faciale et Stomatologie
	GOUDEAU Alain	Bactériologie -Virologie ; Hygiène hospitalière
	GOUPILLE Philippe	Rhumatologie
	GRUEL Yves	Hématologie ; Transfusion
	GUILMOT Jean-Louis	Chirurgie vasculaire ; Médecine vasculaire
	GUYETANT Serge	Anatomie et Cytologie pathologiques
	HAILLOT Olivier	Urologie
	HALIMI Jean-Michel	Thérapeutique ; médecine d'urgence (Néphrologie et

	HERAULT Olivier	Immunologie clinique)
	HERBRETEAU Denis	Hématologie ; transfusion
Mme	HOMMET Caroline	Radiologie et Imagerie médicale
vieillessement		Médecine interne, Gériatrie et Biologie du
MM.	HUTEN Noël	Chirurgie générale
	LABARTHE François	Pédiatrie
	LAFFON Marc	Anesthésiologie et Réanimation chirurgicale ; médecine d'urgence
	LANSON Yves	Urologie
	LARDY Hubert	Chirurgie infantile
	LASFARGUES Gérard	Médecine et Santé au Travail
	LEBRANCHU Yvon	Immunologie
	LECOMTE Pierre	Endocrinologie et Maladies métaboliques
	LECOMTE Thierry	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
	LEMARIE Etienne	Pneumologie
	LESCANNE Emmanuel	Oto-Rhino-Laryngologie
	LINASSIER Claude	Cancérologie ; Radiothérapie
	LORETTE Gérard	Dermato-Vénérologie
	MACHET Laurent	Dermato-Vénérologie
	MAILLOT François	Médecine Interne
	MARCHAND Michel	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
	MARRET Henri	Gynécologie et Obstétrique
	MULLEMAN Denis	Rhumatologie
	NIVET Hubert	Néphrologie
	PAGES Jean-Christophe	Biochimie et biologie moléculaire
	PAINTAUD Gilles	Pharmacologie fondamentale, Pharmacologie clinique
	PATAT Frédéric	Biophysique et Médecine nucléaire
	PERROTIN Dominique	Réanimation médicale ; médecine d'urgence
	PERROTIN Franck	Gynécologie et Obstétrique
	PISELLA Pierre-Jean	Ophthalmologie
	QUENTIN Roland	Bactériologie-Virologie ; Hygiène hospitalière
	RICHARD-LENOBLE Dominique	Parasitologie et Mycologie
	ROBIER Alain	Oto-Rhino-Laryngologie
	ROINGEARD Philippe	Biologie cellulaire
	ROSSET Philippe	Chirurgie orthopédique et traumatologique
	ROYERE Dominique	Biologie et Médecine du développement et de la Reproduction
	RUSCH Emmanuel	Epidémiologie, Economie de la Santé et Prévention
	SALAME Ephrem	Chirurgie digestive
	SALIBA Elie	Biologie et Médecine du développement et de la Reproduction
Mme	SANTIAGO-RIBEIRO Maria	Biophysique et Médecine Nucléaire
	SIRINELLI Dominique	Radiologie et Imagerie médicale
	THOMAS-CASTELNAU Pierre	Pédiatrie
	TOUTAIN Annick	Génétique
	VAILLANT Loïc	Dermato-Vénérologie
	VELUT Stéphane	Anatomie
	WATIER Hervé	Immunologie.

PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

Mme LEHR-DRYLEWICZ Anne-Marie Médecine Générale

PROFESSEURS ASSOCIES

MM. HUAS Dominique Médecine Générale
LEBEAU Jean-Pierre Médecine Générale
MALLET Donatien Soins palliatifs
POTIER Alain Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme ARBEILLE Brigitte Biologie cellulaire
M. BARON Christophe Immunologie
Mme BAULIEU Françoise Biophysique et Médecine nucléaire
M. BERTRAND Philippe Biostatistiques, Informatique médicale et
Technologies de Communication
Mme BLANCHARD-LAUMONIER Emmanuelle Biologie cellulaire
M. BOISSINOT Eric Physiologie
MM. BRILHAULT Jean Chirurgie orthopédique et traumatologique
CORTESE Samuele Pédiopsychiatrie
Mmes DUFOUR Diane Biophysique et Médecine nucléaire
EDER Véronique Biophysique et Médecine nucléaire
FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie
GAUDY-GRAFFIN Catherine Bactériologie - Virologie ; Hygiène hospitalière
M. GIRAUDEAU Bruno Biostatistiques, Informatique médicale et
Technologies de Communication
Mme GOUILLEUX Valérie Immunologie
MM. GUERIF Fabrice Biologie et Médecine du développement et de la
reproduction
GYAN Emmanuel Hématologie, transfusion
M. HOARAU Cyrille Immunologie
M. HOURIOUX Christophe Biologie cellulaire
Mme LARTIGUE Marie-Frédérique Bactériologie-Virologie ; Hygiène hospitalière
Mmes LE GUELLEC Chantal Pharmacologie fondamentale ; Pharmacologie clinique
MACHET Marie-Christine Anatomie et Cytologie pathologiques
MM. MARCHAND-ADAM Sylvain Pneumologie
MEREGHETTI Laurent Bactériologie-Virologie ; Hygiène hospitalière
M.M. PIVER Eric Biochimie et biologie moléculaire
Mme SAINT-MARTIN Pauline Médecine légale et Droit de la santé
M. VOURC'H Patrick Biochimie et Biologie moléculaire

MAITRES DE CONFERENCES

Mlle BOIRON Michèle Sciences du Médicament
ESNARD Annick Biologie cellulaire
M. LEMOINE Maël Philosophie
Mlle MONJAUZE Cécile Sciences du langage - Orthophonie
M. PATIENT Romuald Biologie cellulaire

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE

M. ROBERT Jean Médecine Générale

CHERCHEURS C.N.R.S. - INSERM

MM.	BIGOT Yves BOUAKAZ Ayache	Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 6239 Chargé de Recherche INSERM – UMR CNRS- INSERM 930
Mmes	BRUNEAU Nicole INSERM	Chargée de Recherche INSERM – UMR CNRS- 930
	CHALON Sylvie INSERM	Directeur de Recherche INSERM – UMR CNRS- 930
MM.	COURTY Yves GAUDRAY Patrick GOUILLEUX Fabrice	Chargé de Recherche CNRS – U 618 Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 6239 Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 6239
Mmes	GOMOT Marie INSERM	Chargée de Recherche INSERM – UMR CNRS- 930
	HEUZE-VOURCH Nathalie	Chargée de Recherche INSERM – U 618
MM.	LAUMONNIER Frédéric INSERM	Chargé de Recherche INSERM - UMR CNRS- 930
	LE PAPE Alain	Directeur de Recherche CNRS – U 618
Mmes	MARTINEAU Joëlle INSERM	Chargée de Recherche INSERM – UMR CNRS- 930
	POULIN Ghislaine INSERM 930	Chargée de Recherche CNRS – UMR CNRS-

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Pour l'Ecole d'Orthophonie

Mme	DELORE Claire	Orthophoniste
M	GOUIN Jean-Marie	Praticien Hospitalier
M.	MONDON Karl	Praticien Hospitalier
Mme	PERRIER Danièle	Orthophoniste

Pour l'Ecole d'Orthoptie

Mme	LALA Emmanuelle	Praticien Hospitalier
M.	MAJZOUB Samuel	Praticien Hospitalier

Pour l'Ethique Médicale

Mme	BIRMELE Béatrice	Praticien Hospitalier
-----	------------------	-----------------------

SERMENT D'HIPPOCRATE

**En présence des Maîtres de cette Faculté,
de mes chers condisciples
et selon la tradition 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 gratuits à l'indigent,
et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.**

**Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux
ne 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.**

**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.**

Remerciements :

-Au Pr LEBRANCHU : Vous me faites l'honneur de présider cette thèse. Je vous remercie de m'avoir proposée ce travail intéressant et pour votre patience.

Merci pour les connaissances que vous m'avez apportées en transplantation.

-Au Pr BUCHLER : Merci pour ton soutien, pour m'avoir fait confiance durant le stage de transplantation et pour tes conseils face aux patients. Tu as toujours été disponible pour répondre à mes questions d'ordre diagnostique et professionnel.

-Au Pr HALIMI : Merci pour tout ce que tu m'as appris pendant mon internat et pour ta confiance. Je te remercie pour ton écoute, ta patience et ton enseignement en néphrologie.

-Au Dr GATAULT : Merci d'avoir accepté de diriger ce travail à mes côtés. Ton esprit d'analyse et de synthèse m'ont été indispensables. Tu as été un chef de thèse formidable. Tu as su m'éviter des attaques de panique, mais aussi m'en provoquer ! Je te remercie pour ton encadrement pendant ce travail et pour ton sérieux.

-Au laboratoire HLA surtout à Laurent LEVER, Charlotte MAGDELAINE et Mme BOULANGER pour votre aide et vos explications, pour avoir recherché une centaine de sérums et pour en avoir « retechniqués » certains.

-A l'équipe de néphrologie notamment à Hélène, Prisca, Christelle, Nolwenn, Bénédicte (encore un grand merci d'être venue à ma rescousse), Caroline, Maud, Pauline... : Pour votre soutien, vos conseils et votre bonne humeur.

-A mes co-internes de médecine interne : Pour votre soutien face à mon virage maniaque.

-A Jean-Frédéric MARLIERE : pour votre aide statistique.

-A mes externes de médecine interne pour avoir dictés de nombreux courriers pendant la finalisation de ma thèse.

-A toute ma famille, notamment à ma mère pour son soutien infaillible pendant toutes ces années et à mon père sans qui je n'aurais probablement pas fait ce métier.

-A mes amies notamment Anne et Althéa pour votre coaching au quotidien.

-A mon mari : Merci pour ton soutien de tous les jours, et merci d'être là tant dans les bons que dans les mauvais moments.

Table des matières :

1. Résumé	p 10
2. Abréviations	p 11
3. Introduction	p 12
4. Patients et méthodes	p 15
5. Résultats	p 20
6. Discussion	p 36
7. Conclusion	p 41
8. Références	p 42
9. Annexes	p 46

Résumé:

Introduction- Le rejet humoral chronique actif (RHCA), est une cause fréquente de perte tardive de greffon rénal, d'autant plus qu'aucun traitement curatif n'est actuellement validé. Les lésions anatomo-pathologiques inflammatoires de la microcirculation (LIM) que sont la glomérulite et la capillarite péri-tubulaire, parfois liées à la présence d'anticorps anti-donneur (DSA pour donor specific antigen), sont parfois associées au RHCA et pourraient en modifier le pronostic. Cette étude rétrospective monocentrique décrit les caractéristiques clinico-biologiques au diagnostic, et l'évolution de ces patients (RHCA et LIM).

Patients et Méthodes- Tous les patients avec des LIM et un RHCA diagnostiqués entre juin 2007 et février 2012 dans le service de transplantation rénale de Tours ont été inclus. Les données cliniques, biologiques et histologiques ont été collectées et analysées.

Résultats- 31 patients ont été inclus. Le diagnostic de RHCA (délai médian après la transplantation = 5,4 ans) se traduisait le plus souvent par une protéinurie isolée, la fonction rénale étant stable chez 27 patients. Les DSA dirigés contre les antigènes de classe II étaient prédominants en particulier les anti-DQ (80,6%). Le marquage C4d des capillaires péri-tubulaires était positif dans 40% des cas. Le pronostic rénal était sévère, avec une dégradation de la fonction rénale qui survenait le plus souvent dans la première année et qui se compliquait par des pertes de greffon après un délai médian de 18 mois [8-36]. L'immunisation à la greffe et la présence d'un rejet aigu cellulaire la première année de greffe constituaient des facteurs de risque de perte de fonction du greffon. Les DSA dirigés contre les antigènes de classe II persistaient au cours du suivi, alors que ceux dirigés contre les antigènes HLA de classe I disparaissaient chez 90 % des patients. Le traitement par immunoglobulines intraveineuses à doses immunomodulatrices et Rituximab n'était pas associé à une amélioration du pronostic rénal avec une évolution comparable par rapport aux patients non traités en terme de survie du greffon ($p=0,270$) et de fonction rénale à un 1 an ($p=0,72$). De plus, cette stratégie thérapeutique n'empêchait pas la progression des lésions histologiques chroniques.

Conclusion- Le RHCA associé aux lésions de LIM se traduit par une perte de greffon chez 1/4 des patients à 18 mois. L'association IvIg/Rituximab/Echanges plasmatiques ne semble pas apporter de bénéfice.

Abréviations :

Cg : glomérulite chronique

CPT : capillarite péritubulaire

DFG : débit de filtration glomérulaire

DSA : donor specific antigen

EP : échanges plasmatiques

FI/AT : fibrose intinale et atrophie tubulaire

G : glomérulite

HLA : human leucocyte antigen

IgA : immunoglobulines A

IvIg FD : immunoglobulines intra-veineuses faibles doses

IvIg HD : immunoglobulines intra-veineuses hautes doses

LCT : lymphocytotoxicité

MBG : membrane basale glomérulaire

MFI : mean fluorescence intensity

MMF : mycophenolate mofetil

PBR : ponction biopsie rénale

R : rituximab

RHCA : rejet humoral chronique actif

SA : single antigen

Rejet humoral chronique actif associé à des lésions inflammatoires de la microcirculation du greffon rénal : caractéristiques et évolution

I-Introduction :

La transplantation rénale est le traitement de référence de l'insuffisance rénale terminale, avec une survie des greffons à 10 ans estimée à environ 73% (1). Après une première année marquée par les complications post-opératoires, de rejets aigus (cellulaires et/ou médiés par des anticorps anti-HLA pour human leucocyte antigen), l'incidence annuelle de la perte de fonction du greffon devient relativement constante, entre 3 et 5 % par an. De nombreuses causes ont été identifiées comme pouvant contribuer à la perte de fonction chronique du greffon rénal. Classiquement, on distingue les causes immunologiques et non immunologiques (lésions rénales préexistantes chez le donneur, récurrence de la maladie initiale, hypertension artérielle, tabagisme...). De façon didactique, les mécanismes des rejets chroniques sont distingués en fonction de la participation de l'immunité cellulaire et/ou humorale. Le rejet chronique humoral actif (RHCA) est maintenant reconnu comme une cause fréquente de la perte de fonction des greffons rénaux (2-4). Longtemps focalisée sur la réponse allogénique lymphocytaire T, notamment suite aux travaux fondateurs de l'équipe de Medawar dans les années 1940, la communauté médicale n'a que très récemment intégré l'importance de la réponse anticorps dans la progression des lésions chroniques des greffons (5). Cette évolution conceptuelle a principalement été favorisée par le développement de techniques sensibles de détection et d'identification des anticorps anti-HLA, principaux anticorps pathogènes en transplantation (6). Elles ont en effet permis de montrer d'une part que l'apparition d'anticorps anti-HLA précédait fréquemment la perte de fonction du greffon (7), et d'autre part que leur apparition, notamment lorsqu'ils étaient dirigés contre les antigènes du greffon, constituait un facteur de risque de perte de fonction du greffon (8). Dans la classification de Banff, la présence d'anticorps spécifiquement dirigés contre les antigènes HLA du donneur (donor specific antigen ou DSA) est indispensable au diagnostic de rejet humoral chronique, bien que le seuil de mean fluorescence intensity (MFI) ne soit pas clairement établi (9).

La caractérisation histologique des rejets humoraux chroniques a également fait des progrès importants ces dernières années, comme le montrent les différentes évolutions des

classifications de Banff. Décrit pour la première fois en 2007 (7- annexe 1), il se définit -outre la présence de DSA- par l'association de dépôts de C4d et la présence de lésions chroniques glomérulaires, vasculaires et tubulo-interstitielles. Les dépôts de C4d le long des membranes basales des capillaires péri-tubulaires, un produit de dégradation de la voie classique du complément se liant de façon covalente (et donc prolongée) aux membranes cellulaires, ont été pour la première fois mis en évidence en 1999 dans les rejets à composante humorale (10). Initialement mis en évidence en immunofluorescence (11), ils peuvent également être objectivés en immunohistochimie mais avec une plus faible sensibilité (12). Les travaux initiaux avaient fait considérer ce marquage comme un biomarqueur très sensible, mais il apparaît qu'en réalité ils ne sont présents que dans environ 50% des cas de rejets humoraux chroniques avec des fluctuations dans le temps (13,14). Par conséquent, leur présence n'apparaît plus comme indispensable au diagnostic (15). Les lésions glomérulaires chroniques visibles en microscopie optique considérées dans la définition du rejet humoral chronique sont la présence de double contour de la membrane basale glomérulaire, le regroupement des lésions de fibrose intimale et d'atrophie tubulaire (FI/AT) et d'endartérite fibro-proliférative. En se basant sur le Banff 2011 (15), la présence d'un doublement de la membrane basale glomérulaire (MBG) apparaît comme primordiale. La glomérulopathie du transplant est en effet la lésion probablement la plus spécifique de rejet humoral parmi les lésions chroniques. Le terme chronique n'est pas lié au délai par rapport à la greffe mais aux changements histologiques avec en chef de file le doublement de la membrane basale glomérulaire. Au total, le diagnostic de rejet humoral chronique est certain lorsqu'il associe un ou plusieurs DSA, la présence d'un marquage C4d le long des membranes basales tubulaires et des lésions chroniques. De plus, l'absence de C4d n'apparaît pas comme suffisante pour exclure le diagnostic lorsqu'une glomérulopathie du transplant se développe en présence de DSA. A contrario la présence de FI/AT et/ou d'endartérite fibro-proliférative sans dédoublement des MBG ni C4d ne nous paraissait pas suffisant pour affirmer le diagnostic de rejet humoral.

La glomérulite (g) et la capillarite péri-tubulaire (cpt), correspondant à des lésions inflammatoires de la microcirculation et traduisant une activation endothéliale avec expression membranaire de molécules d'adhésion, sont des caractéristiques du rejet humoral aigu et favorisent l'apparition du rejet humoral chronique (16). Ces lésions entraînent des remodelages vasculaires chroniques responsables de la glomérulopathie chronique affectant ainsi le pronostic. La glomérulite et la capillarite, étant des lésions aiguës, il est présumé qu'elles pourraient être plus sensibles à un renforcement du traitement immunosuppresseur.

Le RHCA a un pronostic sombre (17). Si le traitement du rejet humoral aigu a fait l'objet de plusieurs études rétrospectives, celui du RHCA reste quant à lui peu étudié. Il n'existe pas

actuellement d'essais randomisés contrôlés sur le traitement du RHCA. Plusieurs équipes, dont la nôtre, ont tenté d'utiliser dans les RHCA associés à des lésions de glomérulite ou de capillarite les mêmes molécules que celles utilisés dans le rejet humoral aigu en partant de l'hypothèse que la physiopathologie de ces deux types de rejet était proche. Ainsi, certains RHCA ont été traités par rituximab, immunoglobulines polyvalentes intraveineuses, échanges plasmatiques ou bortezomib.

Nous avons réalisé une étude rétrospective et monocentrique des patients transplantés rénaux avec un RHCA associé à des lésions inflammatoires de la microcirculation, dans l'objectif de mieux caractériser cette population et d'évaluer les stratégies thérapeutiques mises en œuvre.

II-Patients et Méthodes :

Nous avons réalisé une étude rétrospective monocentrique.

II-1 Sélection des patients : (figure 1)

L'objectif était d'identifier de façon exhaustive les patients transplantés rénaux dans le centre de Tours avec un RHCA associé à des lésions inflammatoires de la microcirculation (glomérulite et/ou capillarite péri tubulaire). Hormis la présence de DSA, indispensable au diagnostic, nous avons considéré tous les patients avec une glomérulite chronique quelque soit le marquage C4d, ainsi que les patients ayant une FI/AT (avec ou sans glomérulite chronique) et un marquage C4d positif des capillaires péri-tubulaires.

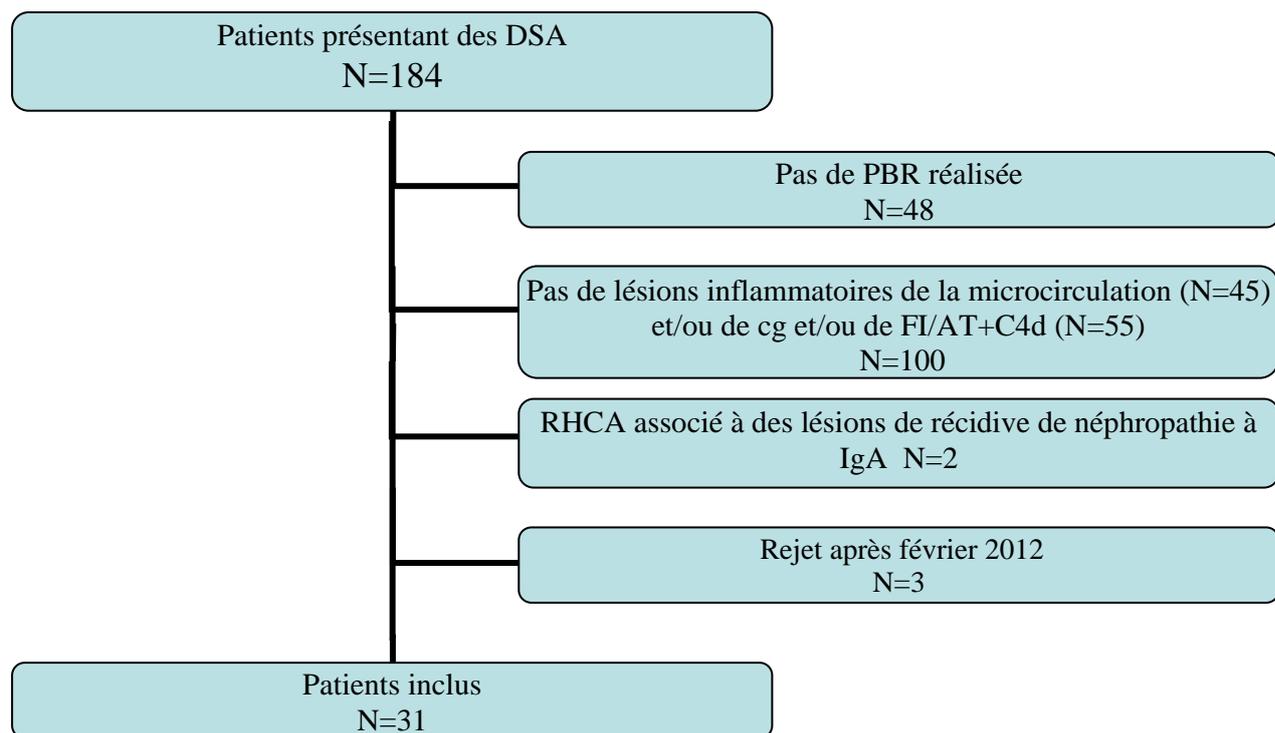
La période d'observation allait de juin 2007, date à laquelle la classification de Banff était notifiée dans nos comptes rendus d'anatomo-pathologie à février 2012 pour avoir un recul d'au moins 6 mois.

Durant cette période, 1314 transplantés rénaux étaient suivis dans notre centre.

Parmi les 184 patients avec des DSA, 136 avaient eu une ponction biopsie rénale et 36 avaient des lésions inflammatoires de la microcirculation associées à un RHCA.

Au total 31 patients étaient identifiés après avoir éliminé 5 patients dont les conséquences du rejet humoral ne pouvaient être évaluées soit en raison d'un recul insuffisant (N=3) soit en raison d'une récurrence de néphropathie à dépôts d'immunoglobulines A (IgA) avec des lésions glomérulaires prolifératives (N=2).

Figure 1. Critères de sélection des patients inclus dans l'étude. Au total 31 patients sur les 184 qui présentaient des DSA ont été sélectionnés. (cg : glomérulite chronique)



II-2 Paramètres étudiés:

Caractéristiques générales de la transplantation :

Des caractéristiques générales initiales de la transplantation ont été extraites de la base de données du service pour chaque patient sélectionné. Concernant les données initiales il s'agissait de la date de greffe, les âges du donneur et du receveur, la cause du décès chez le donneur, le sexe du receveur, les compatibilités HLA (-A, -B, -DR et -DQ), l'immunisation pré-greffe et le rang de la greffe, le temps d'ischémie froide, le traitement immunosuppresseur d'induction, les données du traitement immunosuppresseur à 3 mois, l'existence d'un rejet aigu cellulaire lors de la première année et la date du rejet.

Fonction rénale :

Le dosage de la créatinine dans notre centre était effectué par une méthode de jaffe standardisée (colorimétrique).

Le débit de filtration glomérulaire (DFG) était estimé par la formule MDRD (18) (en dehors d'un enfant pour lequel nous avons utilisé la formule de Schwartz (19)). Nous avons récupéré dans les dossiers de chaque patient la fonction rénale et la protéinurie au diagnostic du rejet, à 6 mois, 1 an, 18 mois et 2 ans après le diagnostic de RHCA.

Immunisation HLA :

Avant la transplantation, tous les patients avaient été testés en Luminex screening classe I et II (One lambda). En cas de dépistage positif (ratio de MFI par rapport à un témoin >4), un Luminex Single Antigen (SA) classe I et/ou II était réalisé. Au diagnostic de rejet, tous les patients avaient au moins un DSA identifié en SA, avec un seuil de positivité de MFI fixée à 1500. Nous avons analysé les MFI des DSA au diagnostic de rejet et celles du sérum du dernier suivi. Pour tous les patients, nous avons pu recueillir en SA les sérums au diagnostic de rejet et après un délai minimum de 6 mois post-rejet. La détermination du typage HLA C et DP pour le receveur et le donneur n'était pas réalisée systématiquement au moment de la greffe mais uniquement en cas de suspicion de DSA.

Les patients immunisés à la greffe et/ou avec des DSA étaient acceptés dans notre étude.

Histologie :

Les biopsies rénales étaient fixées dans du liquide de Bouin. Les lames étaient lues par le même anatomo-pathologiste. Les critères de qualité de la biopsie étaient respectés : ≥ 10 glomérules et ≥ 2 artères de moyen calibre.

La technique d'immunofixation par immunofluorescence directe par l'anti-C4d (laboratoire INGEN, Quidel) sur coupes fixées du C4d était réalisée par une méthode indirecte avec des immunoglobulines murines.

Les lésions étaient quantifiées selon la classification de Banff 2007:

-Glomérulite :

- g1= glomérulite dans <25% des glomérules
- g2= glomérulite dans 25 à 75 % des glomérules
- g3= glomérulite dans >75% des glomérules

-Capillarite péri-tubulaire :

- cpt1= 3 à 4 cellules par section capillaire
- cpt2= 5 à 10 cellules par section capillaire
- cpt3= >10 cellules par section capillaire

-Glomérulite chronique :

-cg1= < 25% des anses capillaires du glomérule le plus atteint

-cg2= 25 à 50 % des anses capillaires du glomérule le plus atteint

-cg3= >50 % des anses capillaires du glomérule le plus atteint

-Atrophie tubulaire :

-ct1= <25 % de tubes atrophiques

-ct2= 25 à 50 % de tubes atrophiques

-ct3= >50 % de tubes atrophiques

-Fibrose interstitielle :

-ci1= 6 à 25% de la surface corticale

-ci2= 26 à 50 % de la surface corticale

-ci3= >50 % de la surface corticale

Traitement :

Nous avons notifié les traitements reçus lors du diagnostic de rejet.

- Modification du traitement immunosuppresseur d'entretien : switch de la ciclosporine ou d'un inhibiteur de mTOR pour le tacrolimus, augmentation de la posologie ou introduction du mycophénolate mofetil (MMF), réintroduction ou majoration de la corticothérapie orale.
- Perfusion de méthylprednisolone.
- Perfusion d'immunoglobulines intraveineuses (IvIg) : nous avons distingué les patients ayant reçu des IvIg à doses dites faibles ou substitutives (IvIg FD), c'est-à-dire une dose inférieure à 1g/kg/cure de ceux ayant reçu des IvIg à doses immunomodulatrices ou hautes doses (IvIg HD), c'est-à-dire ceux ayant eu des cures d'au moins 1g/kg. Pour les perfusions d'IvIg HD, les cures pouvaient être administrées sur un ou deux jours, en fonction de la tolérance, notamment cardiaque.
- Perfusion de Rituximab (R) : la dose administrée était de 375 mg/m² ; Si le taux de CD19 sanguin était supérieur à 5/mm³ à une semaine de la perfusion, une seconde injection à la même dose était réalisée entre J7 et J14.

- Échanges plasmatiques (EP) : réalisés à la phase initiale, à la dose de 40-60 mL/kg.

Nous avons individualisé 3 groupes :

-Le groupe non traité : pour les patients (N=14) n'ayant eu aucun traitement spécifique du rejet humoral. Les patients qui avaient eu une modification de leur immunosuppression de fond et/ou des perfusions de méthylprednisolone étaient inclus dans ce groupe.

-Le groupe traitement faible : pour les patients (N=5) ayant été traités par IvIg FD+Rituximab. Pour l'analyse des facteurs influençant la perte de greffon, nous avons aussi inclus dans ce groupe les patients ayant eu uniquement des immunoglobulines intraveineuses, mais pas dans l'analyse comparant les 3 stratégies thérapeutiques.

-Le groupe intensif : pour les patients (N=8) ayant reçu des IvIg HD+Rituximab± EP.

II-3 Analyse statistique :

Des tests non paramétriques étaient utilisés pour la comparaison des valeurs quantitatives et qualitatives, en analyse univariée : tests de Mann-Whitney, de Fischer's et du Chi². La comparaison de plus de 2 groupes était faite par un test de Kruskal-Wallis. Pour les patients retournés en dialyse, on estimait leurs DFG à 0 mL/min/1,72m².

Les tests de corrélation ont été effectués par un test de Pearson.

Pour l'analyse des facteurs influençant la perte de greffon, nous avons réalisé une analyse de Kaplan Meier avec un test de log-rank et un cox univarié, du fait du faible nombre d'événements dans notre cohorte. Dans tous les cas, un $p < 0,05$ était considéré comme statistiquement significatif.

Les logiciels utilisés pour les analyses statistiques étaient PRISM et STATVIEW.

III-Résultats :

III-1 Caractéristiques des patients : (tableau 1)

Les caractéristiques des 31 patients inclus sont résumées dans le tableau 1. L'âge médian des receveurs était de 43 ans, majoritairement des hommes. 35,5 % étaient immunisés à la greffe et 12,9 % avaient un DSA au moment de la greffe, connu a posteriori. Ces derniers avaient un cross match en lymphocytotoxicité (LCT) négatif sur le sérum du jour et les sérums historiques. Seul 1 patient n'avait pas reçu de traitement d'induction. A 3 mois de greffe, tous étaient sous corticoïdes et avaient un traitement antiprolifératif (MMF ou azathioprine). Aucun patient n'était traité par inhibiteur de mTor au diagnostic.

III-2 Description des rejets :

Le délai de survenue médian du RHCA par rapport à la greffe était de 5,4 ans (0,4-19) sans qu'aucun arrêt brutal du traitement immunosuppresseur n'ait été notifié.

III-2a Fonction rénale :

Au diagnostic, la médiane de créatininémie était de 158 $\mu\text{mol/L}$ (77-287) correspondant à un DFG à 41 $\text{mL}/\text{min}/1,73 \text{ m}^2$ (21,9-81). Vingt-sept patients avaient une fonction rénale stable dans les 6 mois précédant le diagnostic, les autres avaient une augmentation maximale de leur créatinine de 50 $\mu\text{mol/L}$. Aucun n'avait doublé sa créatininémie durant cette période.

La médiane de la protéinurie était de 1,2 $\text{g}/24\text{H}$. Seuls 5 patients avaient une protéinurie inférieure à 0,3 $\text{g}/24\text{h}$. 26 avaient une protéinurie significative, supérieure à 3 $\text{g}/24\text{h}$ pour 6 d'entre eux.

La pression artérielle systolique médiane au diagnostic était de 145 mmHg (103-210) et diastolique de 82 mmHg (68-100).

Tableau 1. Caractéristiques cliniques et immunologiques des patients présentant un RHCA.

		Tous patients (N=31)
Receveur		
Age à la greffe (ans)		43 [8-74]
Sexe Masculin (%)		81
Immunisation pré greffe (%)		36
Première greffe (%)		84
Donneur		
Age (ans)		44 [2-78]
Décédé (%)		90
cause du décès vasculaire (%)		43
A la Greffe		
Temps Ischémie Froide (H)		18 [0-45]
Induction par thymoglobuline (%)		52
Mismatch - A	0 / 1 / 2	10 / 55 / 35
- B	0 / 1 / 2	13 / 35 / 52
-DR	0 / 1 / 2	10 / 48 / 42
- DQ	0 / 1 / 2	3 / 42 / 55
A 3 mois		
DFG (mL/min/1,73 m ²)		54 [37-94]
Protéinurie (g / 24h)		0,3 [0,0-3,9]
Tacrolimus (%)		23
Mycophénolate mofétil (%)		90
Rejet aigu Cellulaire dans la 1 ^{ère} année (%)		29

Les chiffres correspondent soit à des médianes avec entre parenthèses les valeurs minimales et maximales soit à des pourcentages.

III-2b Lésions histologiques : (tableau 3)

Les lésions inflammatoires de la microcirculation étaient majoritairement de la glomérulite. En effet celle-ci était présente chez 97 % des patients. Dans la moitié des cas, elle était modérée (g2) à sévère (g3). Un quart des patients n'avaient pas de capillarite péri-tubulaire. 3 patients avaient de la glomérulite chronique sans FI/AT et 3 patients avaient de la FI/AT sans glomérulite chronique. 51,6% des patients avaient au minimum des lésions de FI/AT grade 2. Le marquage C4d des capillaires péri-tubulaires était positif chez 40% des patients. Parmi ces 12 patients, le marquage était focal et discret chez 2 d'entre eux. Pour les autres, le marquage était linéaire, diffus et intense.

Il existait une corrélation faible entre la glomérulite et la capillarite péri-tubulaire avec un coefficient de corrélation r égale à 0.4752 (IC 95%=0.1385-0.7134) et r^2 à 0.2258 ($p=0,008$). De même nous avons constaté une corrélation faible entre la glomérulite chronique et la FI/AT avec un coefficient de corrélation r égale à 0.3747 (IC 95%=-0.6476- -0.01664) et r^2 à 0,1404 ($p=0,0413$).

Tableau 3. Lésions histologiques au diagnostic selon la classification de Banff. La moitié des patients présentait des lésions chroniques modérées à sévères.

		Lésions inflammatoires de la microcirculation		Lésions chroniques	
		Glomérulite	CPT	CG	FI/AT
Médiane / Moyenne		1 / 1,6	1 / 1,2	2 / 1,6	2 / 1,5
Absente	% patients	3,2	23,3	9,3	10
Légère	% patients	48,4	40	35,5	39,6
Modérée	% patients	32,3	20	25,8	36,7
Sévère	% patients	16,1	16,7	29	13,7

Légère correspond à un score de g, cpt, cg et FI/AT à 1. Modérée correspond à un score égale à 2 et sévère à un score égale à 3.

III-2c DSA : (tableau4)

Le délai médian entre l'apparition de DSA et la PBR était de 7 mois avec un maximum de 22 ans.

29 patients sur 31 avaient des DSA dirigés contre les antigènes de classe II (DSA anti classe II) dont 25 avaient au moins un anti-DQ. Seuls 8 patients avaient des DSA dirigés contre les antigènes de classe I (DSA anti classe I). Les MFI les plus hautes au diagnostic des DSA anti classe II (6492 (2112-19414)) avaient tendance à être plus élevées que les MFI des DSA anti classe I (4200 (1515-10135)) sans que cela ne soit significatif (p=0,0574).

Tableau 4. Répartition des DSA. Les DSA anti classe II sont prédominants dans le RHCA. Les anticorps anti DQ sont majoritaires.

	Tous patients (N=31)
DSA anti Classe I	
Nb de patients	8
Nb de DSA= 1 / 2	5 / 3
Anti -A / -B / -C	4 / 1 / 3
MFI max médiane (min-max)	4200 [1515-10135]
DSA anti Classe II	
Nb de patients	29
Nb de DSA=1 / 2 / ≥3	19 / 7 / 3
Anti -DR / -DQ / -DP	10 / 25 / 1
MFI max médiane (min-max)	6492 [2112-19414]

III-4 Evolution :

III-4 a Analyse descriptive des rejets humoraux chroniques actifs :

La médiane de suivi des patients post rejet était de 18 mois (6-60).

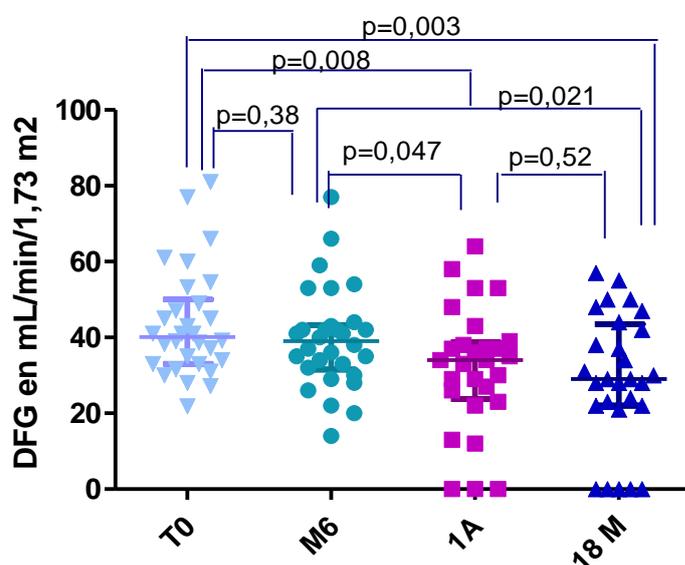
Fonction du greffon (figure 3)

Sur les 31 patients, 8 ont perdu leur greffon. Pour un, la perte de greffon était liée au décès du patient (coma sur hémorragie intra-cérébrale). Pour les 7 autres, le retour en dialyse était attribuable au RHCA. A la suite du diagnostic, le délai médian de retour en dialyse était de 18 mois.

Il n'existait pas de différence significative entre le DFG au diagnostic (T0) et à 6 mois ($p=0,38$). Par contre, les DFG à 1 an et 18 mois étaient significativement différents par rapport au DFG au diagnostic ($p=0,008$ et $0,003$ respectivement).

Après une période de stabilité de 6 mois du DFG (DFG médian à 6 mois = 40 mL/min/1,73 m²), nous avons observé une dégradation progressive de la fonction rénale avec un DFG significativement plus bas à 1 an (34 mL/min/1,73 m² ; $p=0,0474$) et à 18 mois (29 mL/min/1,73 m² ; $p=0,0214$). La dégradation de la fonction rénale lors du RHCA survenait plutôt entre le 6 et 12 mois après le diagnostic. Il n'y avait pas de différence significative entre 1 an et 18 mois ($p=0,5166$).

Figure 3. Comparaison des DFG au diagnostic (T0), à 6 mois, 1 an et 18 mois. Pour cette analyse, nous avons exclu le patient pédiatrique (DFG estimé par une formule différente). La dégradation était progressive et survenait entre 6 mois et 1 an.



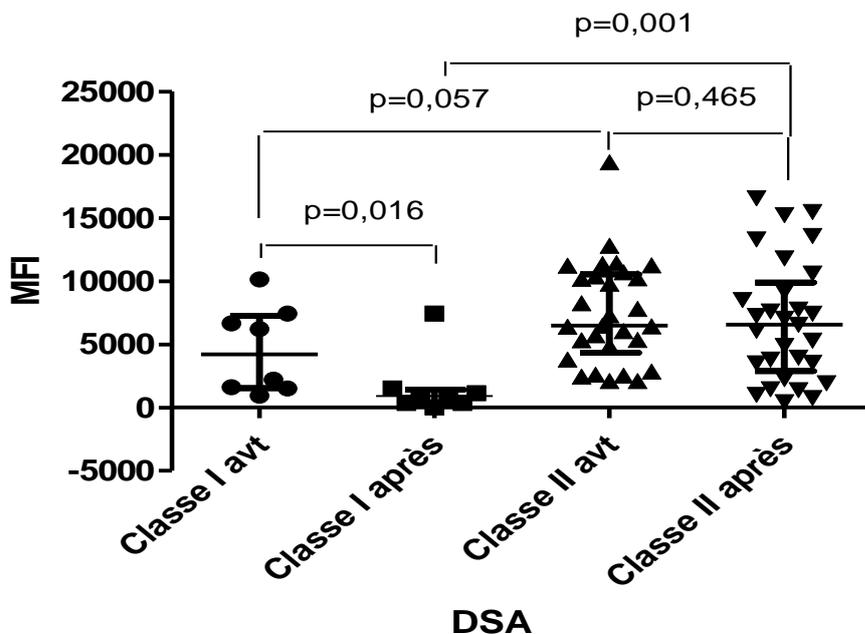
Concernant l'évolution de la protéinurie, 6 patients sur les 7 ayant perdu leur greffon avaient une protéinurie >1 g/24h au diagnostic. 3 présentaient une protéinurie diminuée dont un qui avait une protéinurie à 0,3 g/24 h au moment de la perte de greffon. 3 avaient majoré leur protéinurie à plus de 4 g/24h (dont un jusqu'à 13,7 g/24h avec une glomérulite chronique sévère) et le dernier était resté stable aux alentours d'1g/24h.

Evolution immunologique (Figure 4)

Chez les 8 patients qui avaient des DSA dirigés contre les antigènes de classe I, 7 avaient négativé leurs anticorps, ce qui se traduisait par une diminution significative des MFI sur les derniers sérums par rapport à ceux au diagnostic ($p=0,0156$). Par contre, une négativation des DSA dirigés contre les antigènes de classe II n'avait été objectivée que chez 2 patients. Il n'y avait d'ailleurs pas de différence pour les MFI en classe II entre le diagnostic et le dernier sérum ($p=0,4648$).

Parmi les 7 patients ayant perdu leur greffon à cause du RHCA, 2 avaient des DSA dirigés contre les antigènes de classe I et les avaient négativés. Pour les MFI de classe II, elles avaient soit augmenté soit étaient restées stables.

Figure 4. Evolution des DSA. Les anticorps dirigés contre les antigènes de classe I se négativent plus souvent que les anticorps dirigés contre les antigènes de classe II.



III-4 b : Facteurs influençant la perte de greffon dans le RHCA :

Nous avons étudié les variables pouvant influencer la perte de greffon par un modèle de cox univarié. Les résultats sont représentés dans le tableau 5.

L'immunisation à la greffe (DSA ou non DSA) apparaissait comme un facteur de risque de perte de greffon ($p=0,0366$) de même que la présence d'un rejet aigu cellulaire durant la 1^{ère} année de greffe ($p=0,0248$). La protéinurie n'apparaissait pas statistiquement comme un facteur de risque alors que, comme cité précédemment, 6 patients sur les 7 ayant perdu leur greffon avaient une protéinurie supérieure à 1 g/ 24h.

Tableau 5. Analyse de l'association entre les paramètres clinico-biologiques au diagnostic et la perte de fonction du greffon. Analyse univariée par méthode de Cox.

	P	Hazard Ratio (Intervalle de confiance 95%)
Donneur < 45 ans	0,0946	0,162 (0,019-1,369)
Receveur < 45 ans	0,5387	0,623 (0,137-2,820)
Induction par thymoglobuline	0,7197	1,316 (0,293-5,903)
Immunisation à la greffe (absence)	0,0366	0,171 (0,0328-0,896)
Temps IF (h)	0,9325	1,004 (0,916-1,101)
DFG (mL/min/1,73m ²) au diagnostic	0,5537	1,114 (0,916-1,049)
Protéinurie (g / 24h) au diagnostic	0,3277	1,296 (0,765-2,194)
Rejet aigu cellulaire la 1 ^{ère} année	0,0248	6,595 (1,270-34,25)
PAS > 130 mmHg	0,1921	0,368 (0,082-1,652)
PAD > 80 mmHg	0,4103	0,500 (0,096-2,601)
MFI max classe II au diagnostic	0,9860	0,636 (0,116-3,475)
g ≥ 2	0,7456	0,78 (0,174-3,495)
Cpt = 0	0,1573	2,991 (0,655-13,650)
Cg ≥ 2	0,2106	0,3468 (0,066 ; 1,820)
FI/AT ≥ 2	0,4770	1,723 (0,384-7,723)
C4d+	0,6011	0,636 (0,116-3,475)
Délai > 3ans / greffe	0,6066	1,546 (0,294-8,120)

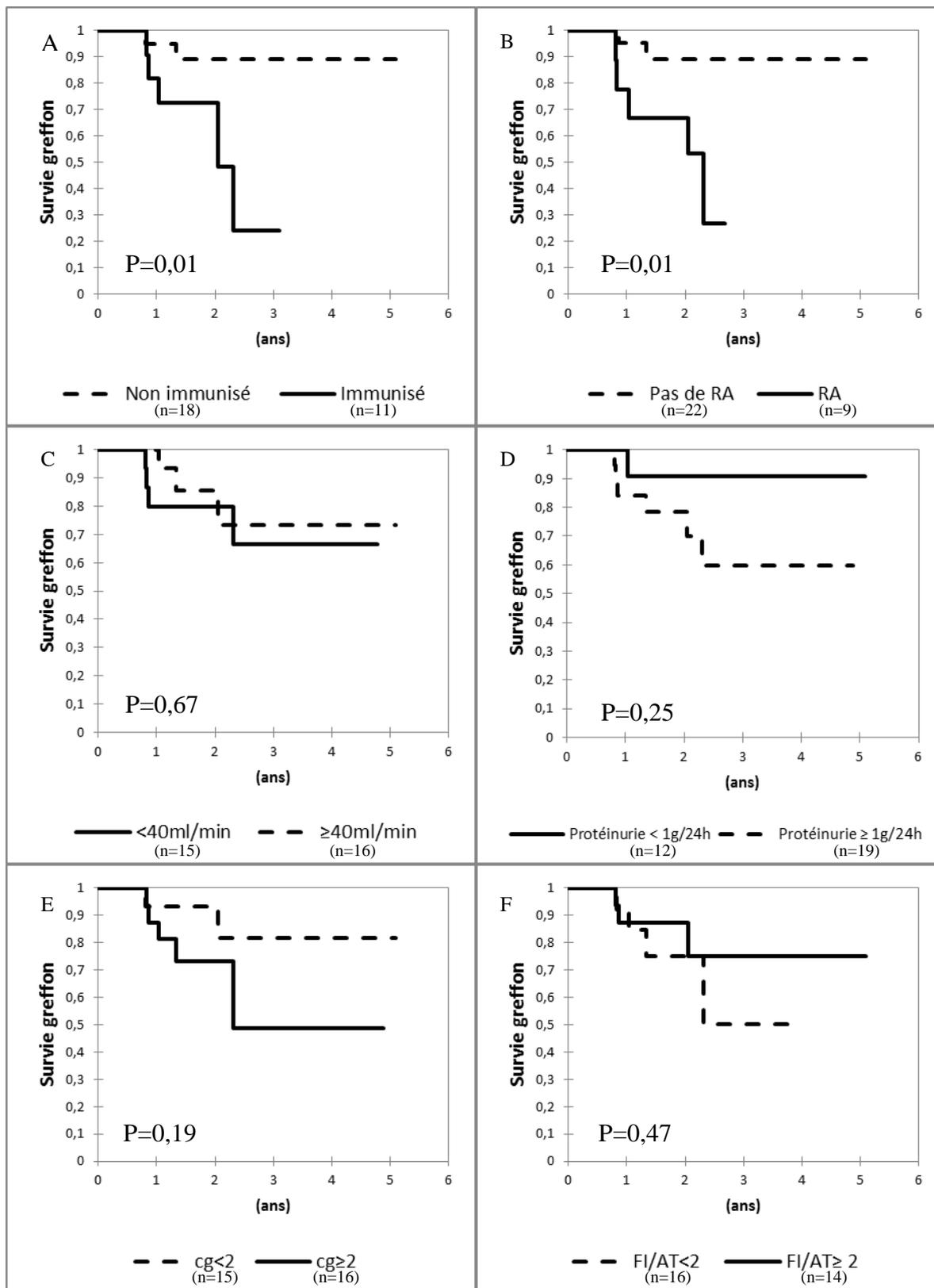
IF= ischémie froide ; PAS= pression artérielle systolique ; PAD= pression artérielle diastolique

Le modèle de cox univarié comportait des limites du fait de notre faible effectif et du nombre insuffisant d'évènements. Nous avons donc réalisé un Kaplan Meier avec un test de log Rank pour les paramètres qui nous apparaissaient les plus pertinents : immunisation à la greffe, DFG, protéinurie des 24h, score de glomérulite chronique et de FI/AT au diagnostic et l'antécédent de rejet aigu cellulaire dans la 1^{ère} année de greffe. Les courbes de Kaplan Meier sont représentées dans la figure 5.

L'analyse en Kaplan Meier a confirmé l'immunisation à la greffe ($p=0,01$) et la survenue d'un rejet aigu cellulaire durant la 1^{ère} année ($p=0,01$) comme facteurs influençant la survie du greffon.

Malgré l'absence de significativité, l'aspect des courbes de Kaplan Meier pouvait faire envisager un impact négatif de la glomérulite chronique modérée à sévère au diagnostic. En effet sur les 7 patients ayant perdu leur greffon, 5 avaient un score de cg égale à 3. Afin d'appuyer ce résultat, nous avons distingué dans notre population les patients qui, à la biopsie initiale, avaient un score de glomérulite chronique supérieur à la sévérité de la FI/AT (dits CG prédominante), ceux qui avaient un score de FI/AT supérieur au score de glomérulite chronique (dits FI/AT prédominante) et ceux dont les scores étaient identiques (dits CG=FI/AT). Le nombre de patients dans chaque groupe était respectivement de 14, 10 et 7. Les caractéristiques au diagnostic étaient statistiquement identiques (Annexe 2). Concernant l'évolution de leur fonction rénale, il n'existait pas de différence significative entre les groupes à 6 mois ($p=0,297$). Cependant à 1 an, on constatait que les DFG dans le groupe CG prédominante étaient statistiquement plus bas que dans le groupe FI/AT prédominante ($p=0,008$). Le tableau comparatif correspond à l'annexe 3.

Figure 5. Survie actuarielle des greffons (décès censurés) en fonction du statut d'immunisation à la greffe (A), de la survenue d'un rejet aigu cellulaire au cours de la première année (B), du débit de filtration glomérulaire estimé par la formule MDRD au diagnostic (C), du niveau de protéinurie au diagnostic (D), de l'intensité de la glomérulite chronique au diagnostic (E) et de l'intensité des lésions de fibrose interstitielle et d'atrophie tubulaire ou FI/AT au diagnostic (F). Le p a été calculé par un test Log Rank.



III.4c : Analyse du traitement

- Description des traitements :

Parmi nos 31 patients :

-5 avaient été traités par IvIg FD + Rituximab

-8 avaient été traités par IvIg HD + Rituximab (sur les 8 patients, 5 ont eu également des échanges plasmatiques)

-14 n'avaient pas reçu de traitement spécifique du rejet humoral. Parmi les 14, trois avaient eu une modification de leur immunosuppression de fond (switch ciclosporine pour tacrolimus) et un avait reçu 3 bolus de méthylprednisolone.

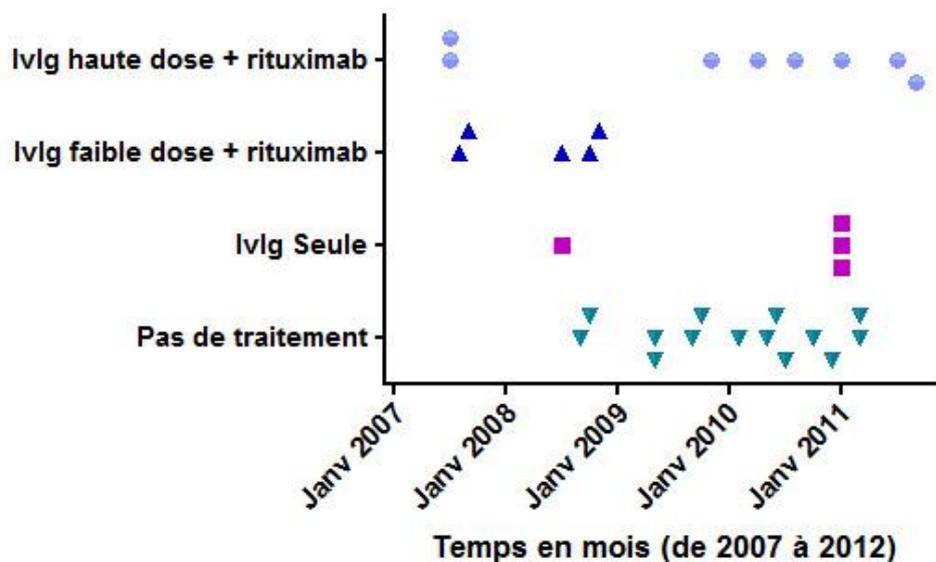
-3 avaient été traités par IvIg HD seules

-1 avait été traité par IvIg FD seules

- Choix des traitements : (figure 6)

Depuis 2007, à Tours, la stratégie de prise en charge du RHCA a évolué au cours du temps expliquant les différents groupes de traitement. En effet initialement le traitement privilégié était l'association IvIg FD+Rituximab puis devant l'impression d'inefficacité, le traitement a été modifié au bénéfice de l'association IvIg HD+Rituximab. Concernant les 4 patients traités par IvIg seules, 2 avaient une infection virale (BK virus et parvovirus) considérée comme une contre-indication à l'utilisation du Rituximab. Il est intéressant de noter que les décisions d'IvIg hautes doses seules ont été prises en janvier 2011. Pour les patients non traités, la décision d'abstention thérapeutique était due, soit au fait que les lésions histologiques étaient chroniques et avancées avec peu de lésions « aiguës » de l'inflammation, soit au fait que les DSA étaient présents depuis plusieurs années avec une fonction rénale stable. L'âge avancé était également pris en compte dans notre décision thérapeutique.

Figure 6. Historique des décisions thérapeutiques.

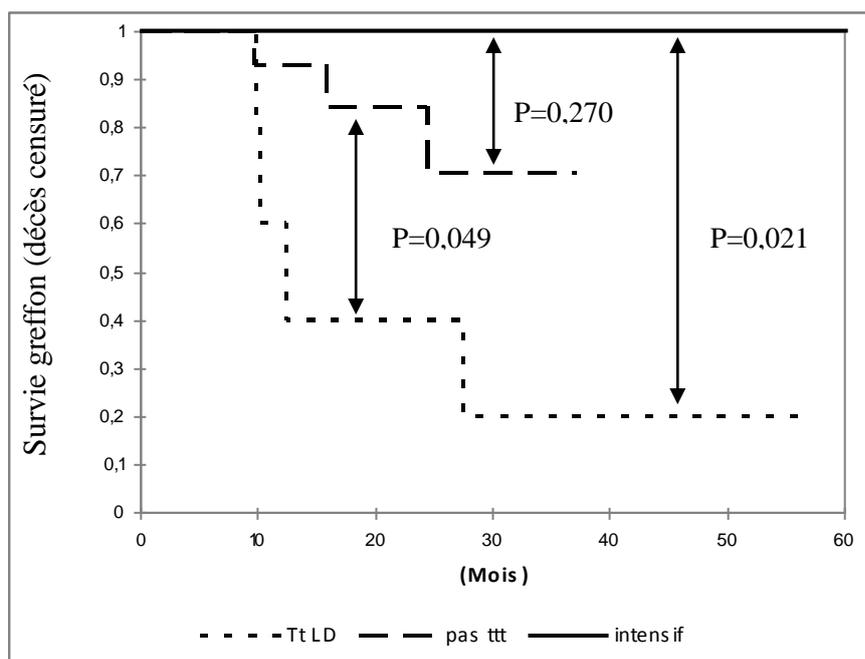


- Comparaison des groupes IvIg FD+Rituximab, IvIg HD + Rituximab ± EP et non traité :

Afin de déterminer l'impact du traitement sur l'évolution de nos cas de RHCA, nous avons comparé l'évolution de ces 3 groupes.

Ainsi, en comparant la survie cumulée du greffon entre les groupes, nous avons constaté que les patients traités par IvIg FD + Rituximab avaient évolué moins bien que les patients non traités ($p=0,049$) et que les patients traités de façon intensive (groupe IvIg HD+Rituximab± EP) ($p=0,021$). Il n'y avait pas de différence significative entre les patients non traités et traités de façon intensive ($p=0,270$) comme ceci est représenté dans la figure 7.

Figure 7. Courbe de survie cumulée par une analyse de Kaplan Meier (p : Log Rank). Survie des greffons (décès censurés) en fonction du traitement du RHCA : traitement intensif (N=8), traitement non intensif (N=5) et pas de traitement (N=14).



Tt LD= traitement non intensif (IvIg FD+Rituximab)

Dans le groupe traitement intensif, nous avons un recul d'un an pour un patient. Pour tous les autres, le recul était au minimum de 2 ans.

Les caractéristiques au diagnostic des 3 groupes de traitement, représentées dans le tableau 6, n'étaient significativement pas différentes en dehors de l'immunisation à la greffe (plus faible dans le groupe IvIg HD+Rituximab±EP). Les patients traités par IvIg FD+Rituximab avaient un DFG plus bas, un score de cg plus sévère que les 2 autres groupes et le délai médian entre l'apparition des DSA et le traitement était de 21 mois (0-28) dans le groupe IvIg FD+Rituximab contre 5 mois (0-19) dans le groupe IvIg HD + Rituximab±EP. Au final, étant donné que les patients du groupe IvIg FD+Rituximab évoluait moins bien et que leur rejet semblait plus sévère au diagnostic, nous avons préféré comparer uniquement les évolutions dans les groupes non traités et intensif afin de déterminer si le traitement avait un impact sur le devenir du RHCA.

Tableau 6. Caractéristiques au diagnostic des groupes IvIg FD + Rituximab (=R), IvIg HD + Rituximab± EP et non traité (pas TTT). Les groupes sont comparables au diagnostic en dehors de l'immunisation à la greffe.

	IvIg FD + R N=5	Pas TTT N=14	IvIg HD + R ± EP N=8	p
Age D (ans)	39 [16-60]	42 [21-58]	47 [25-56]	0,6631
Age R (ans)	49 [39-47]	42 [19-68]	45 [28-70]	0,9040
Sexe M (%)	100	64.3	100	0.0579
Immunsation à la greffe	4/5	6/14	0/8	0.0119
Délai / greffe (ans)	3.2 [0.5-5.5]	5.7 [1.2-19]	5.9 [1.4-8.4]	0,2668
Rejet aigu cellulaire	3/5	3/14	3/8	0,2787
DFG (mL/min/1,73m ²)	31.6 [21.9-66]	40.1 [30-81]	47 [38.3-77]	0,2118
Protéinurie g/24h	1.19 [0.92-3.01]	1.8 [0.3-4.8]	0.8 [0.1-3.04]	0,2930
g	1	1	2	0,7483
Cg	3	2	1	0,1080
Ci+Ct	2	4	2	0,1215
MFI max CII	4586 [2600-6417]	7307 [2112-19414]	8334 [2470-11433]	0,3688

Les chiffres correspondent soit à des médianes avec entre parenthèses les extrêmes soit à des pourcentages. D=donneur ; R=receveur ; M= masculin ; Ci=lésions interstitielles chroniques ; Ct = lésions d'atrophie tubulaire ; CII=classe HLA II.

- Comparaison des groupes IvIg HD+Rituximab± EP et non traité :

1. Fonction rénale : (Figures 8 et 9)

Les DFG à 1 an n'étaient pas significativement différents entre les 2 groupes (p=0,721), bien que le DFG dans le groupe traitement intensif était plus élevé au diagnostic que celui du groupe non traité. Nous avons constaté ensuite que le DFG s'altérait à 1 an dans le groupe traité (-12 mL/min/1,73m² ; p=0,04) alors que cette dégradation était moins importante chez le groupe non traité (-6,1 mL/min/1,73m² ; p=0,72).

Une majoration importante de la protéinurie n'était constatée que dans le groupe traité à 6 mois (1,8 versus 0,8 g/24h au diagnostic) alors qu'initialement elle était plus basse.

Figure 8. Evolution des DFG dans les groupes non traités (pas TTT) et IvIg HD +Rituximab±EP (HD+Ritux) au diagnostic (dg) et à 1 an (1A). Les DFG sont significativement plus bas à 1 an dans le groupe IvIg HD +Rituximab±EP en comparaison à leur fonction rénale au diagnostic.

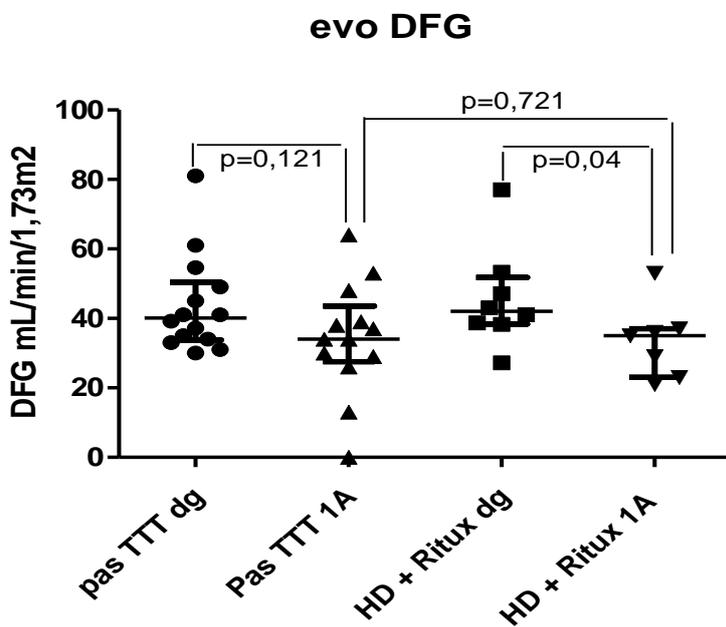
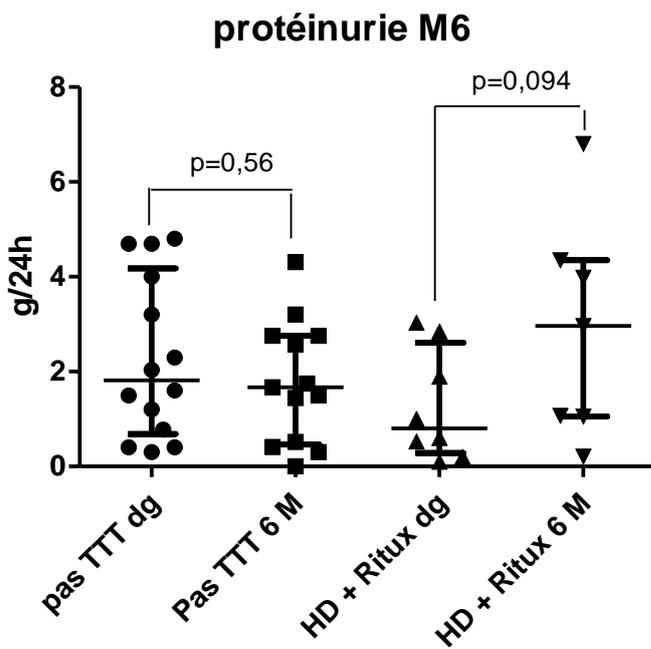


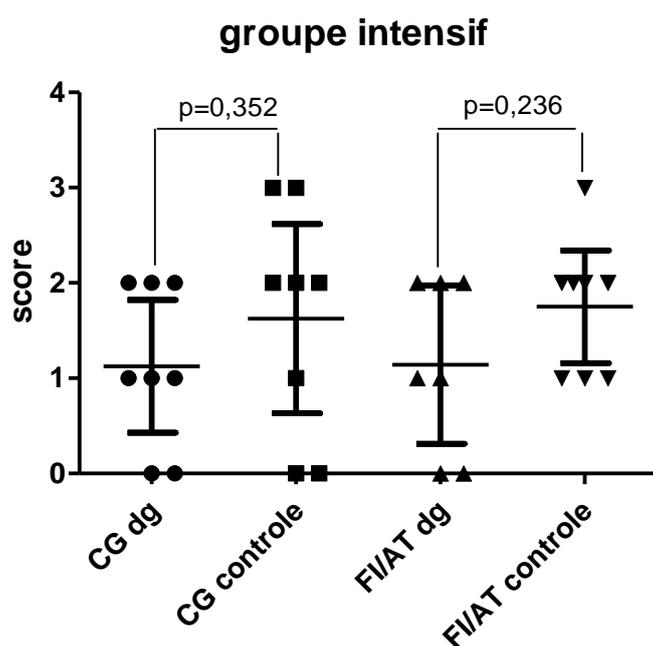
Figure 9. Evolution de la protéinurie dans les groupes non traités (pas TTT) et IvIg HD +Rituximab±EP (HD+Ritux) au diagnostic (dg) et à 6 mois (6M). La protéinurie dans le groupe intensif avait tendance à augmenter malgré le traitement.



2. Histologie : (Figure 10)

Seuls 4 patients sur 14 ont été de nouveau biopsiés dans le groupe non traité, alors que tous les patients traités l'ont été, empêchant de ce fait une comparaison de l'évolution histologique entre les groupes. Cependant nous avons constaté que les lésions chroniques progressaient dans le groupe traité avec notamment un score médian de cg à 1 au diagnostic et à 2 sur la PBR de contrôle.

Figure 10. Evolution des lésions chroniques dans le groupe intensif.



3. Immunologiques :

Les anticorps dirigés contre les antigènes de classe II sur les derniers sérums dans les groupes IvIg HD + Rituximab±EP et non traité n'étaient pas statistiquement différents ($p=0,6573$).

III-5 Tolérance du traitement :

Dans notre cohorte, nous n'avons pas mis en évidence d'effets secondaires graves chez nos patients traités.

Dans le groupe IvIg FD + rituximab, 1 patient avait développé un zona résolutif sous traitement. 2 patients avaient présenté des épisodes de diarrhées inexplicées. 1 patient avait eu un rash cutané sans gravité.

Dans le groupe IvIg HD + rituximab± EP, 2 patients avaient eu des troubles digestifs à type de diarrhées.

Un patient avait présenté une aggravation de ses troubles du comportement suite à une perfusion de méthylprédnisolone.

IV-DISCUSSION :

Dans notre étude, nous avons constaté que le RHCA était révélé essentiellement lors de la découverte de DSA et/ou l'apparition d'une protéinurie parfois abondante. En effet, les patients avaient le plus souvent une fonction rénale stable dans les mois précédant le diagnostic. Colvin a décrit une évolution naturelle en 4 stades sur le développement du RHCA (annexe 4) en s'appuyant sur une conférence de consensus de l'Institut National de la Santé (20). Nos patients correspondaient dans leur grande majorité au stade III de cette classification avec des lésions histologiques installées.

Les caractéristiques de nos rejets au diagnostic montraient une fonction rénale stable avec un DFG médian à 41 mL/min/1,73m², une protéinurie abondante et des lésions chroniques sévères à la biopsie. Malgré de nombreux travaux sur le RHCA, aucun consensus clair n'a été établi sur le diagnostic et l'évolution du RHCA. En effet, dans les études sur les effets de certaines thérapeutiques, les patients inclus ont soit des rejets aigus humoraux soit des rejets humoraux sans précision. D'autre part, les publications sur les rejets humoraux chroniques actifs sont des études sur des petites cohortes de patients (21,22). Récemment Billing *et al.* ont publié une étude sur 20 enfants qui présentaient des RHCA et étaient traités par rituximab et immunoglobulines fortes doses (23). Il s'agit là d'une des plus larges cohortes de patients pour cette pathologie. Leur délai médian de survenue du rejet était identique au notre (5,5 ans), leur DFG estimé par la formule de schwartz était de 43 mL/min/1,73m² au diagnostic. Soixante-cinq pour cent des patients avaient une protéinurie entre 20 et 200 mg/mmol de créatininurie, les autres étaient supérieures. Leurs caractéristiques au diagnostic étaient proches de celles retrouvées dans notre étude permettant une comparaison entre les études.

Comme nous l'avons dit précédemment, aucun consensus précis n'a été établi dans les critères diagnostiques du RHCA notamment sur les données histologiques. Nous avons pris le parti dans notre étude de ne pas sélectionner les patients avec des DSA qui avaient uniquement des lésions de FI/AT sans glomérulite chronique et sans marquage de c4d afin de ne pas diagnostiquer à tort des RHCA.

Concernant les pertes de greffon, 22,6 % des patients avaient perdu leur greffon avec un délai médian de retour en dialyse rapide de 18 mois. Nous avons montré dans notre étude que la dégradation de la fonction rénale dans les RHCA avait lieu lors de la 1^{ère} année, notre

médiane de suivi était donc satisfaisante pour analyser les dégradations de fonctions rénales dans notre population.

Toutes les publications s'accordent sur le fait que le RHCA a un pronostic très réservé mais nous n'avons actuellement pas d'incidence précise de la perte de greffon dans cette pathologie car il n'existe à notre connaissance aucune étude de cohorte. Nous disposons uniquement des pourcentages de perte de greffon dans des groupes de traitement, ce qui ne peut s'appliquer aux patients non traités. En analysant les survies de greffon des différentes études publiées sur le RHCA, elles oscillent entre 58 et 100% à 2 ans suivant les cohortes (22–25) et les thérapeutiques et entre 70 à 80% pour les rejets aigus (26). Nous n'avons donc pas d'informations sur la survie des patients non traités.

Les facteurs de risque de perte de greffon retrouvés dans notre étude étaient l'immunisation à la greffe, le traitement associant IvIg FD et rituximab et la présence d'un rejet aigu cellulaire dans la 1^{ère} année de greffe.

Le fait que l'immunisation à la greffe apparaisse comme un facteur de perte de greffon s'explique difficilement. L'exposition du transplant aux anticorps est peut-être plus longue pour les patients déjà immunisés par rapport à ceux présentant des anticorps de novo. Or la présence d'anticorps au long court est responsable de lésions de glomérulopathie chronique qui évoluent vers la perte de greffon (27). Cependant un des patients ayant perdu son transplant avait un DSA depuis 22 ans.

L'incidence du rejet cellulaire dans la première année a diminué au cours du temps, elle est actuellement estimée à moins de 15 % dans certaines études (28). Dans notre étude, la présence d'un antécédent de rejet aigu cellulaire était de mauvais pronostic. Le rejet aigu cellulaire est un facteur classique de perte de greffon avec des risques relatifs cependant très variables en fonction des études (29), **qui semble perdurer** comme l'a montré une étude américaine de registre publiée très récemment (29). Matignon *et al.* ont également montré que la présence de lésions de rejet aigu cellulaire contemporaines d'un rejet humoral aigu, était associée à un moins bon pronostic rénal (30). Il n'en demeure pas moins que notre étude apporte un résultat original puisque nous mettons en évidence que la présence d'un rejet aigu cellulaire dans la 1^{ère} année de greffe est un facteur de mauvais pronostic dans le RHCA. Une des explications pour expliquer la relation entre le rejet cellulaire et humoral est que la réponse T est indispensable à la production des anticorps responsables des lésions humorales. Dans notre étude, sur les 8 patients présentant un rejet cellulaire, 7 ont développé des DSA au décours dont 5 dans un délai inférieur à 1 an. La survenue du rejet cellulaire pourrait être le lit du RHCA.

Parmi les autres variables testées, la présence de C4d, la MFI élevée, le DFG bas et la présence d'une FI/AT sévère n'apparaissent pas comme des facteurs de risque de perte de greffon. Or dans la littérature, les facteurs de mauvais pronostic décrits dans le RHCA concernant la survie du greffon sont : la créatinine élevée au diagnostic, une MFI élevée, des lésions de FI/AT sévères et la présence de C4d (31,32). Notre faible nombre de patients pourrait expliquer la différence de résultats. Pour le C4d les données sont contradictoires, dans une étude de 2009 les rejets C4d négatifs seraient moins sévères mais entraîneraient plus de glomérulopathie du transplant elle-même responsable de perte de greffon (33).

Malgré les difficultés pour étudier l'efficacité des traitements dans le RHCA, liées à l'absence de randomisation et l'hétérogénéité de la population, nous avons pu constater que l'utilisation des immunoglobulines polyvalentes à dose immunomodulatrice et du rituximab ne permettait pas d'enrayer la progression des lésions chroniques, notamment de la glomérulite. En effet, si les patients ayant reçu le traitement non intensif (IvIg FD + Rituximab) avaient une moins bonne survie du greffon, le lien avec l'inefficacité de cette stratégie reste difficile à démontrer en raison des caractéristiques de ces patients : retard diagnostic, protéinurie plus élevée, moins bonne fonction rénale (34). A l'opposé, le RHCA semblait moins avancé chez les patients recevant un traitement intensif que chez les patients non traités avec un DFG plus élevé, une protéinurie plus basse et un score de glomérulite chronique plus faible. Nous avons constaté qu'il n'y a pas plus de perte de greffon dans le groupe non traité que dans le groupe traitement intensif. Les patients traités par IvIg HD + Rituximab ± EP avaient une progression importante de leur protéinurie, une dégradation de leur fonction rénale. Pour expliquer la faible efficacité des traitements dans le RHCA, il faut savoir que les cellules productrices d'allo-anticorps sont CD20- (35), donc peu sensibles aux traitements et plus particulièrement au rituximab. Les échanges plasmatiques permettent une déplétion des anticorps mais n'enrangent pas leur production. De même que les immunoglobulines neutralisent les DSA sur une période donnée et ont une fonction immunomodulatrice.

Les études précédentes utilisant ces traitements ont montré des évolutions variables et il ne s'agissait pas d'études randomisées et contrôlées. En effet quelques études ont étudié l'efficacité de l'association rituximab et IvIg montrant comme nous l'avons cité précédemment des survies de greffon proches de celles retrouvées dans notre étude et concluant à une efficacité de cette association (23,24,36,37). Malheureusement, ces études n'ont pas montré de bénéfice de traitement puisqu'il n'y avait pas de groupe contrôle. Les autres traitements étudiés dans le RHCA sont le bortezomib et l'eculizumab. Le bortezomib est un inhibiteur du protéosome entraînant une destruction des cellules productrices d'allo-

anticorps (38). Son intérêt est discuté, Everly et *al.* avaient montré en 2008, une amélioration de la fonction rénale, des lésions histologiques et des paramètres immunologiques sous traitement en association avec des EP (39). En 2010, une étude sur l'association du bortezomib et des IvIg montrait surtout un intérêt au stade précoce du rejet (40). Contrairement au rejet chronique, ces molécules ont montré un bénéfice dans le rejet humoral aigu (31,41,42) mais leurs intérêts restent surtout de prévenir le RHCA en cas d'apparition de DSA (43,44).

La tolérance des traitements était relativement bonne. Nous n'avons en effet pas constaté d'effets secondaires graves tels que des infections opportunistes graves ou des infections à BK virus.

En analysant la balance bénéfices-risques, on serait tenté aux vues de ces premiers résultats de ne pas traiter les RHCA.

Au niveau histologique, le marquage du C4d était positif dans 40 % des cas, ce qui est en accord avec les nouvelles données de la littérature concernant le RHCA (45) et n'apparaissait pas comme un facteur de mauvais pronostic. Nous avons montré que la prédominance de glomérulite chronique par rapport à la FI/AT est associée à une moins bonne fonction rénale à 1 an. Dans la littérature les données sont contradictoires. Des études précédentes avaient montré que la FI/AT était un facteur de risque de perte de greffon (25). Cosio et *al.* avaient décrit que la présence de cg entraînait une diminution de la survie globale du greffon par rapport à l'absence de cg dans les glomérulopathies du transplant (46). Nous avons également constaté que le fait de développer un RHCA dans les 3 premières années de greffe n'était pas plus délétère que de développer un rejet tardif en termes de survie de greffon.

Dans notre étude, 93,6 % des patients avaient des DSA de classe II et seuls 2 patients (6,4%) avaient des DSA de classe I sans classe II alors que la répartition des mismatch en classe I et en classe II était la même. Les anti-DQ étaient les plus fréquents. Ceci est en accord avec des publications récentes sur l'impact des anti-DQ. En effet ces anticorps sont les anticorps de novo les plus fréquents et sont associés à une augmentation du risque de survenue d'un rejet humoral, de glomérulopathie du transplant et de perte de greffon (47,48). Cette prédominance des anticorps dirigés contre les antigènes de classe II dans le RHCA pourrait s'expliquer par le fait que les antigènes de classe II sont fortement exprimés dans les cellules endothéliales activées et dans les capillaires péri-tubulaires entraînant au long cours des modifications de structures des vaisseaux des glomérules et des capillaires péri-tubulaires responsables de glomérulopathie du transplant (49).

Les DSA dirigés contre les antigènes de classe I se négativent alors que les DSA dirigés contre les antigènes de classe II évoluent de manière variable. A notre connaissance, cette distinction classe I-classe II dans l'évolution du RHCA n'a jamais été rapportée. Plusieurs hypothèses peuvent être formulées: 1/ la cellule productrice d'anticorps dirigés contre les antigènes de classe I est différente de celle productrice d'anticorps dirigés contre les antigènes de classe II. Les DSA dirigés contre les antigènes HLA de classe I pourraient être produits par des plasmocytes à demi-vie courte tandis que ceux de classe II seraient fabriqués par des cellules à demi-vie longue, moins sensibles au traitement. 2/ Les DSA dirigés contre les antigènes HLA de classe I ne se négativent pas mais se fixent au greffon et deviennent alors indétectables (50,51), d'autant que 2 patients non traités avaient négativé leurs DSA dirigés contre les antigènes HLA de classe I, donc il ne s'agissait pas d'un effet lié aux échanges plasmatiques ou aux immunoglobulines. Mais cette hypothèse est peu probable car il n'a pas été décrit une affinité supérieure pour le greffon des DSA dirigés contre les antigènes HLA de classe I par rapport aux classes II.

Notre seuil de positivité des DSA à Tours est à 1500. Dans le diagnostic de RHCA, la présence de DSA est indispensable, cependant aucune valeur de MFI n'est précisée et il existe une variabilité importante entre les laboratoires. D'autre part, il semble exister une dissociation entre l'évolution des MFI des DSA et la fonction rénale, une augmentation de la MFI n'entraîne pas forcément d'aggravation de la créatininémie et inversement une négativation des DSA n'évite pas la perte de greffon. Ceci avait déjà été constaté dans des études précédentes (35). Cependant Lefaucher et *al.* en 2009 constataient qu'une bonne évolution de la survie rénale était associée à une diminution des MFI à 3 mois (31). Mais leur étude comparait des patients traités avec des IvIg seules à l'association IvIg+Rituximab+EP ; dans ce dernier groupe la survie rénale était meilleure mais les patients étaient moins sévères au diagnostic. Les échanges plasmatiques entraînent une déplétion d'anticorps, donc le fait que les DSA soient plus bas dans ce groupe n'est pas surprenant d'autant que le délai était à 3 mois.

Notre étude apporte des réponses mais elles présentent également des limites : il s'agissait d'une étude rétrospective avec un faible nombre de patients empêchant une analyse multi-variée. Dans cette population hétérogène, nous n'avons que 7 pertes de greffon. Les patients avaient des durées de suivi variables et des traitements différents. Pour un patient, le recul par rapport au rejet était inférieur à 1 an.

V – Conclusion :

Notre étude a permis de montrer que la dégradation de la fonction rénale lors du RHCA se fait principalement lors de la première année du diagnostic. Le RHCA entraînait dans notre étude une perte de greffon dans 22,6% des cas. Les facteurs associés à la perte de greffon étaient l'immunisation à la greffe, le traitement non intensif et le rejet aigu cellulaire durant la 1^{ère} année de greffe. Mais l'intérêt d'un traitement intensif est lui aussi remis en question puisque l'analyse de la fonction rénale n'a pas permis de mettre en évidence un bénéfice. L'implication des différentes classes HLA dans le RHCA reste encore à définir. Une étude prospective avec un nombre plus important de patients et des traitements moins hétérogènes semble indispensable pour déterminer la place des thérapeutiques dans le RHCA et l'association HLA.

VI –References :

1. González-Audiffred N, Alfaro-Abúndiz FG, Aranda-Verástegui F, Isordia-Segovia J, Cheville-Ramos A, Montes-de Oca-Arce JL, et al. [Experience in kidney transplantation from 1999 to 2011 at the Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto, San Luis Potosí]. *Rev. Invest. Clin.* 2011 sept;63 Suppl 1:38-43.
2. Einecke G, Sis B, Reeve J, Mengel M, Campbell PM, Hidalgo LG, et al. Antibody-mediated microcirculation injury is the major cause of late kidney transplant failure. *Am. J. Transplant.* 2009 nov;9(11):2520-31.
3. Gaston RS, Cecka JM, Kasiske BL, Fieberg AM, Leduc R, Cosio FC, et al. Evidence for antibody-mediated injury as a major determinant of late kidney allograft failure. *Transplantation.* 2010 juill 15;90(1):68-74.
4. Sellarés J, de Freitas DG, Mengel M, Reeve J, Einecke G, Sis B, et al. Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence. *Am. J. Transplant.* 2012 févr;12(2):388-99.
5. Terasaki PI, Ozawa M. Predicting kidney graft failure by HLA antibodies: a prospective trial. *Am. J. Transplant.* 2004 mars;4(3):438-43.
6. Roelen DL, Doxiadis IIN, Claas FHJ. Detection and clinical relevance of donor specific HLA antibodies: a matter of debate. *Transpl. Int.* 2012 juin;25(6):604-10.
7. Worthington JE, Martin S, Al-Husseini DM, Dyer PA, Johnson RWG. Posttransplantation production of donor HLA-specific antibodies as a predictor of renal transplant outcome. *Transplantation.* 2003 avr 15;75(7):1034-40.
8. Pelletier RP, Hennessy PK, Adams PW, Orosz CG. High incidence of donor-reactive delayed-type hypersensitivity reactivity in transplant patients. *Am. J. Transplant.* 2002 nov;2(10):926-33.
9. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Haas M, Sis B, Mengel M, et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am. J. Transplant.* 2008 avr;8(4):753-60.
10. Collins AB, Schneeberger EE, Pascual MA, Saidman SL, Williams WW, Tolkoff-Rubin N, et al. Complement activation in acute humoral renal allograft rejection: diagnostic significance of C4d deposits in peritubular capillaries. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1999 oct;10(10):2208-14.
11. Feucht HE, Felber E, Gokel MJ, Hillebrand G, Nattermann U, Brockmeyer C, et al. Vascular deposition of complement-split products in kidney allografts with cell-mediated rejection. *Clin. Exp. Immunol.* 1991 déc;86(3):464-70.
12. Puttarajappa C, Shapiro R, Tan HP. Antibody-mediated rejection in kidney transplantation: a review. *J Transplant.* 2012;2012:193724.
13. Haas M. C4d-negative antibody-mediated rejection in renal allografts: evidence for its existence and effect on graft survival. *Clin. Nephrol.* 2011 avr;75(4):271-8.

14. Sis B, Campbell PM, Mueller T, Hunter C, Cockfield SM, Cruz J, et al. Transplant glomerulopathy, late antibody-mediated rejection and the ABCD tetrad in kidney allograft biopsies for cause. *Am. J. Transplant.* 2007 juill;7(7):1743-52.
15. Mengel M, Sis B, Haas M, Colvin RB, Halloran PF, Racusen LC, et al. Banff 2011 Meeting report: new concepts in antibody-mediated rejection. *Am. J. Transplant.* 2012 mars;12(3):563-70.
16. Loupy A, Hill GS, Suberbielle C, Charron D, Anglicheau D, Zuber J, 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 janv;11(1):56-65.
17. Colvin RB. Antibody-mediated renal allograft rejection: diagnosis and pathogenesis. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007 avr;18(4):1046-56.
18. Earley A, Miskulin D, Lamb EJ, Levey AS, Uhlig K. Estimating equations for glomerular filtration rate in the era of creatinine standardization: a systematic review. *Ann. Intern. Med.* 2012 juin 5;156(11):785-795, W-270, W-271, W-272, W-273, W-274, W-275, W-276, W-277, W-278.
19. Selistre L, De Souza V, Cochat P, Antonello ICF, Hadj-Aissa A, Ranchin B, et al. GFR estimation in adolescents and young adults. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2012 juin;23(6):989-96.
20. Colvin RB, Smith RN. Antibody-mediated organ-allograft rejection. *Nat. Rev. Immunol.* 2005 oct;5(10):807-17.
21. Fehr T, Rüsi B, Fischer A, Hopfer H, Wüthrich RP, Gaspert A. Rituximab and intravenous immunoglobulin treatment of chronic antibody-mediated kidney allograft rejection. *Transplantation.* 2009 juin 27;87(12):1837-41.
22. Billing H, Rieger S, Ovens J, Süsal C, Melk A, Waldherr R, et al. Successful treatment of chronic antibody-mediated rejection with IVIG and rituximab in pediatric renal transplant recipients. *Transplantation.* 2008 nov 15;86(9):1214-21.
23. Billing H, Rieger S, Süsal C, Waldherr R, Opelz G, Wühl E, et al. IVIG and rituximab for treatment of chronic antibody-mediated rejection: a prospective study in paediatric renal transplantation with a 2-year follow-up. *Transpl. Int.* [Internet]. 2012 août 17 [cité 2012 sept 5]; Available de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22897111>
24. Fehr T, Rüsi B, Fischer A, Hopfer H, Wüthrich RP, Gaspert A. Rituximab and intravenous immunoglobulin treatment of chronic antibody-mediated kidney allograft rejection. *Transplantation.* 2009 juin 27;87(12):1837-41.
25. Tanriover B, Wright SE, Foster SV, Roush KS, Castillo-Lugo JA, Fa K, et al. High-dose intravenous immunoglobulin and rituximab treatment for antibody-mediated rejection after kidney transplantation: a cost analysis. *Transplant. Proc.* 2008 déc;40(10):3393-6.
26. Venetz J-P, Pascual M. New treatments for acute humoral rejection of kidney allografts. *Expert Opin Investig Drugs.* 2007 mai;16(5):625-33.
27. Gloor JM, Sethi S, Stegall MD, Park WD, Moore SB, DeGoey S, et al. Transplant glomerulopathy: subclinical incidence and association with alloantibody. *Am. J. Transplant.* 2007 sept;7(9):2124-32.

28. Nankivell BJ, Alexander SI. Rejection of the kidney allograft. *N. Engl. J. Med.* 2010 oct 7;363(15):1451-62.
29. Lentine KL, Gheorghian A, Axelrod D, Kalsekar A, L'italien G, Schnitzler MA. The implications of acute rejection for allograft survival in contemporary u.s. Kidney transplantation. *Transplantation.* 2012 août 27;94(4):369-76.
30. Matignon M, Muthukumar T, Seshan SV, Suthanthiran M, Hartono C. Concurrent Acute Cellular Rejection Is an Independent Risk Factor for Renal Allograft Failure in Patients With C4d-Positive Antibody-Mediated Rejection. *Transplantation [Internet].* 2012 août 28 [cité 2012 sept 5]; Available de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22932115>
31. Lefaucheur C, Nochy D, Andrade J, Verine J, Gautreau C, Charron D, et al. Comparison of combination Plasmapheresis/IVIg/anti-CD20 versus high-dose IVIg in the treatment of antibody-mediated rejection. *Am. J. Transplant.* 2009 mai;9(5):1099-107.
32. Murata K, Baldwin WM 3rd. Mechanisms of complement activation, C4d deposition, and their contribution to the pathogenesis of antibody-mediated rejection. *Transplant Rev (Orlando).* 2009 juill;23(3):139-50.
33. 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 oct;9(10):2312-23.
34. Bartel G, Schwaiger E, Böhmig GA. Prevention and treatment of alloantibody-mediated kidney transplant rejection. *Transpl. Int.* 2011 déc;24(12):1142-55.
35. Sberro-Soussan R, Zuber J, Suberbielle-Boissel C, Candon S, Martinez F, Snanoudj R, et al. Bortezomib as the sole post-renal transplantation desensitization agent does not decrease donor-specific anti-HLA antibodies. *Am. J. Transplant.* 2010 mars;10(3):681-6.
36. Hong YA, Kim HG, Choi SR, Sun IO, Park HS, Chung BH, et al. Effectiveness of rituximab and intravenous immunoglobulin therapy in renal transplant recipients with chronic active antibody-mediated rejection. *Transplant. Proc.* 2012 janv;44(1):182-4.
37. Billing H, Rieger S, Ovens J, Süsal C, Melk A, Waldherr R, et al. Successful treatment of chronic antibody-mediated rejection with IVIG and rituximab in pediatric renal transplant recipients. *Transplantation.* 2008 nov 15;86(9):1214-21.
38. Woodle ES, Walsh RC, Alloway RR, Girnita A, Brailey P. Proteasome inhibitor therapy for antibody-mediated rejection. *Pediatr Transplant.* 2011 sept;15(6):548-56.
39. Everly MJ, Everly JJ, Susskind B, Brailey P, Arend LJ, Alloway RR, et al. Bortezomib provides effective therapy for antibody- and cell-mediated acute rejection. *Transplantation.* 2008 déc 27;86(12):1754-61.
40. Flechner SM, Fatica R, Askar M, Stephany BR, Poggio E, Koo A, et al. The role of proteasome inhibition with bortezomib in the treatment of antibody-mediated rejection after kidney-only or kidney-combined organ transplantation. *Transplantation.* 2010 déc 27;90(12):1486-92.
41. Rocha PN, Butterly DW, Greenberg A, Reddan DN, Tuttle-Newhall J, Collins BH, et al. Beneficial effect of plasmapheresis and intravenous immunoglobulin on renal allograft

- survival of patients with acute humoral rejection. *Transplantation*. 2003 mai 15;75(9):1490-5.
42. Fehr T, Gaspert A. Antibody-mediated kidney allograft rejection: therapeutic options and their experimental rationale. *Transpl. Int.* 2012 juin;25(6):623-32.
 43. Loupy A, Suberbielle-Boissel C, Hill GS, Lefaucheur C, Anglicheau D, Zuber J, et al. Outcome of subclinical antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients with preformed donor-specific antibodies. *Am. J. Transplant.* 2009 nov;9(11):2561-70.
 44. Kohei N, Hirai T, Omoto K, Ishida H, Tanabe K. Chronic antibody-mediated rejection is reduced by targeting B-cell immunity during an introductory period. *Am. J. Transplant.* 2012 févr;12(2):469-76.
 45. Worthington JE, McEwen A, McWilliam LJ, Picton ML, Martin S. Association between C4d staining in renal transplant biopsies, production of donor-specific HLA antibodies, and graft outcome. *Transplantation*. 2007 févr 27;83(4):398-403.
 46. Cosio FG, Gloor JM, Sethi S, Stegall MD. Transplant glomerulopathy. *Am. J. Transplant.* 2008 mars;8(3):492-6.
 47. Devos JM, Gaber AO, Knight RJ, Land GA, Suki WN, Gaber LW, et al. Donor-specific HLA-DQ antibodies may contribute to poor graft outcome after renal transplantation. *Kidney Int.* 2012 sept;82(5):598-604.
 48. Willicombe M, Brookes P, Sergeant R, Santos-Nunez E, Steggar C, Galliford J, et al. De Novo DQ Donor-Specific Antibodies Are Associated With a Significant Risk of Antibody-Mediated Rejection and Transplant Glomerulopathy. *Transplantation*. 2012 juill 27;94(2):172-7.
 49. Mengel M, Husain S, Hidalgo L, Sis B. Phenotypes of antibody-mediated rejection in organ transplants. *Transpl. Int.* 2012 juin;25(6):611-22.
 50. Martin L, Guignier F, Mousson C, Rageot D, Justrabo E, Rifle G. Detection of donor-specific anti-HLA antibodies with flow cytometry in eluates and sera from renal transplant recipients with chronic allograft nephropathy. *Transplantation*. 2003 juill 27;76(2):395-400.
 51. Bocrine O, Hussein Aly AA, Guignier F, Funes de la Vega M, Rifle G, Mousson C, et al. Distribution of donor-specific antibodies in the cortex and the medulla of renal transplants with chronic allograft nephropathy. *Transpl. Immunol.* 2007 avr;17(3):227-9.

VII –Annexes :

Annexe 1. Banff 2007

Table 3: Banff 97 diagnostic categories for renal allograft biopsies—Banff'07 update ^{1,2}

1. Normal
2. Antibody-mediated changes (may coincide with categories 3, 4 and 5 and 6) Due to documentation of circulating antidonor antibody, and C4d ³ or allograft pathology <u>C4d deposition without morphologic evidence of active rejection</u> C4d+, presence of circulating antidonor antibodies, no signs of acute or chronic TCMR or ABMR (i.e. g0, cg0, ptc0, no ptc lamination). Cases with simultaneous borderline changes or ATN are considered as indeterminate <u>Acute antibody-mediated rejection</u> ⁴ C4d+, presence of circulating antidonor antibodies, morphologic evidence of acute tissue injury, such as (Type/Grade): I. ATN-like minimal inflammation II. Capillary and/or glomerular inflammation (ptc/g >0) and/or thromboses III. Arterial—v3 <u>Chronic active antibody-mediated rejection</u> ⁴ C4d+, presence of circulating antidonor antibodies, morphologic evidence of chronic tissue injury, such as glomerular double contours and/or peritubular capillary basement membrane multilayering and/or interstitial fibrosis/tubular atrophy and/or fibrous intimal thickening in arteries
3. Borderline changes: 'Suspicious' for acute T-cell-mediated rejection (may coincide with categories 2 and 5 and 6) This category is used when no intimal arteritis is present, but there are foci of tubulitis (t1, t2 or t3) with minor interstitial infiltration (i0 or i1) or interstitial infiltration (i2, i3) with mild (t1) tubulitis
4. T-cell-mediated rejection (TCMR, may coincide with categories 2 and 5 and 6) <u>Acute T-cell-mediated rejection (Type/Grade:)</u> IA. Cases with significant interstitial infiltration (>25% of parenchyma affected, i2 or i3) and foci of moderate tubulitis (t2) IB. Cases with significant interstitial infiltration (>25% of parenchyma affected, i2 or i3) and foci of severe tubulitis (t3) IIA. Cases with mild-to-moderate intimal arteritis (v1) IIB. Cases with severe intimal arteritis comprising >25% of the luminal area (v2) III. Cases with 'transmural' arteritis and/or arterial fibrinoid change and necrosis of medial smooth muscle cells with accompanying lymphocytic inflammation (v3) <u>Chronic active T-cell-mediated rejection</u> 'chronic allograft arteriopathy' (arterial intimal fibrosis with mononuclear cell infiltration in fibrosis, formation of neo-intimal)
5. Interstitial fibrosis and tubular atrophy , no evidence of any specific etiology (may include nonspecific vascular and glomerular sclerosis, but severity graded by tubulointerstitial features) Grade I. Mild interstitial fibrosis and tubular atrophy (<25% of cortical area) II. Moderate interstitial fibrosis and tubular atrophy (26–50% of cortical area) III. Severe interstitial fibrosis and tubular atrophy/ loss (>50% of cortical area)
6. Other: Changes not considered to be due to rejection—acute and/or chronic (for diagnoses see Table 14 in (42); may include isolated g, cg or cv lesions and coincide with categories 2, 3, 4 and 5)

¹The 2007 updates are underlined.

²All existing scoring categories (g, t, v, i, cg, ct, ci, cv, ah, mm) remain unchanged (42)

³Please refer to Table 2 and Figure 1.

⁴Suspicious for antibody-mediated rejection if C4d (in the presence of antibody) or all-antibody (C4d+) not demonstrated in the presence of morphologic evidence of tissue injury.

Annexe 2. Caractéristiques des patients au diagnostic en fonction de leur histologie. Pas de différence significative entre les groupes.

	CG prédominant	CG=FI/AT	FI/AT	p
Age donneur ans	46 (16-66)	39 (25-58)	37.5 (2,5-78)	0,6359
Age receveur ans	47.5 (23-69)	47 (19-70)	40 (8-74)	0,7823
immunisation à la greffe	42.8 %	57.1 %	10 %	0,1001
Induction SAL	50 %	87.7 %	30 %	0,0764
Délai greffe ans	5.4 (0,8-19)	5.2 (0,4-9,2)	5.4 (1,4-22,7)	0,7911
DFG en mL/min	40 (21,9-66)	41 (28-81)	42.1 (31-77)	0,7405
Protéinurie g/24h	1.7 (0,4-4,7)	1.2 (0,15-4,8)	0.7 (0,1-4,7)	0,0857
glomérulite	1	2	1	0,4823
cpt	1	2	1	0,6688
C4d	30.7 %	42.9%	50 %	0,6366
DSA de classe I	21.4 %	42.8%	20 %	0,5018
DSA de classe II	100 %	71.4%	100 %	NF
MFI max classe I	6200 (2200-7448)	6656 (945-10135)	1559,5(1515-1604)	0,4054
MFI max classe II	5125.5 (2112-11370)	11250 (6053-19414)	6447(2470-12807)	0,0624
	N=14	N=7	N=10	

Les chiffres correspondent soit à des médianes avec entre parenthèses les extrêmes soit à des pourcentages.

	Cg prédominante	Cg=FI/AT	FI/AT prédominante	p
--	-----------------	----------	--------------------	---

DFG M6	34 (14-66)	42 (22-59)	39.5 (20-83)	0,2970
DFG 1A	28 (0-64)	35 (21-58)	39 (33-88)	0,0364

Annexe 3. Evolution des DFG au cours du temps dans les 3 groupes histologiques. Le DFG à 1 an est significativement plus bas dans le groupe cg prédominante.

Les chiffres correspondent à des médianes avec entre parenthèses les extrêmes

Annexe 4. Les stades du RHCA décrits par COLVIN

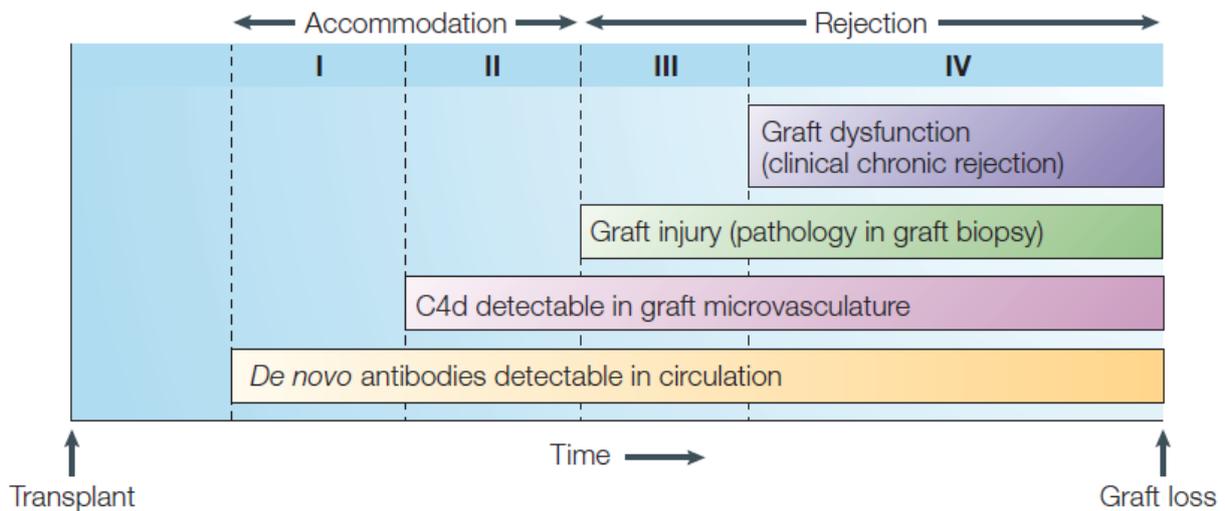


Figure 2 | **Proposed sequence of stages of antibody-mediated rejection.** Antibodies that are specific for graft antigens (typically HLA molecules) might be produced at any time after engraftment. Pre-sensitized patients have circulating specific antibodies before transplantation (usually causing immediate hyperacute rejection) (not shown). The time between the stages might range from days (acute) to months or years (chronic). The first two stages meet the criteria for accommodation, because the graft is not pathologically injured despite the presence of circulating antibodies. C4d, complement component 4d.

Vu, le Directeur de Thèse

**Vu, le Doyen de la Faculté
de médecine de TOURS**

pages : 50, tableaux : 6, figures : 10, Annexes : 4

Résumé :

Introduction- Le rejet humoral chronique actif (RHCA), est une cause fréquente de perte tardive de greffon rénal, d'autant plus qu'aucun traitement curatif n'est actuellement validé. Les lésions anatomo-pathologiques inflammatoires de la microcirculation (LIM) que sont la glomérulite et la capillarite péri-tubulaire, parfois liées à la présence d'anticorps anti-donneur (DSA pour donor specific antigen), sont parfois associées au RHCA et pourraient en modifier le pronostic. Cette étude rétrospective monocentrique décrit les caractéristiques clinico-biologiques au diagnostic, et l'évolution de ces patients (RHCA et LIM). **Patients et Méthodes-** Tous les patients avec des LIM et un RHCA diagnostiqués entre juin 2007 et février 2012 dans le service de transplantation rénale de Tours ont été inclus. Les données cliniques, biologiques et histologiques ont été collectées et analysées. **Résultats-** 31 patients ont été inclus. Le diagnostic de RHCA (délai médian après la transplantation = 5,4 ans) se traduisait le plus souvent par une protéinurie isolée, la fonction rénale étant stable chez 27 patients. Les DSA dirigés contre les antigènes de classe II étaient prédominants en particulier les anti-DQ (80,6%). Le marquage C4d des capillaires péri-tubulaires était positif dans 40% des cas. Le pronostic rénal était sévère, avec une dégradation de la fonction rénale qui survenait le plus souvent dans la première année et qui se compliquait par des pertes de greffon après un délai médian de 18 mois [8-36]. L'immunisation à la greffe et la présence d'un rejet aigu cellulaire la première année de greffe constituaient des facteurs de risque de perte de fonction du greffon. Les DSA dirigés contre les antigènes de classe II persistaient au cours du suivi, alors que ceux dirigés contre les antigènes HLA de classe I disparaissaient chez 90 % des patients. Le traitement par immunoglobulines intraveineuses à doses immunomodulatrices et Rituximab n'était pas associé à une amélioration du pronostic rénal avec une évolution comparable par rapport aux patients non traités en terme de survie du greffon ($p=0,270$) et de fonction rénale à un 1 an ($p=0,72$). De plus, cette stratégie thérapeutique n'empêchait pas la progression des lésions histologiques chroniques. **Conclusion-** Le RHCA associé aux lésions de LIM se traduit par une perte de greffon chez 1/4 des patients à 18 mois. L'association IvIg/Rituximab/Echanges plasmatiques ne semble pas apporter de bénéfice.

Mots clés :

- Rejet humoral Chronique actif
- Anticorps anti-donneur
- Lésions inflammatoires de la microcirculation

Jury :

Président de Jury : **Monsieur le Professeur LEBRANCHU**

Membres du jury : **Monsieur le Professeur HALIMI**

Monsieur le Professeur BUCHLER

Monsieur le Docteur GATAULT

Madame le Docteur MAGDELAINE

Date de la soutenance : 21/09/2012 à Tours