

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

Année 2016

N° 062

THESE

pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

Spécialité Anatomie et Cytologie Pathologiques

par

Faustine MITTLER
née le 27/10/1986 à Cholet (Maine et Loire)

Présentée et soutenue publiquement le 3 mars 2016

MALADIE CORONAIRE DU GREFFON ET ALLOIMMUNISATION ANTI-HLA
APRES TRANSPLANTATION CARDIAQUE

Président : Madame le Professeur C. Bossard

Directeur de thèse : Madame le Docteur C. Toquet

Membres du jury : Madame le Docteur A. Cesbron
Monsieur le Docteur G. Lamirault
Madame le Docteur S. Pattier

REMERCIEMENTS

J'adresse tout d'abord mes sincères remerciements aux membres du jury,

Madame le Professeur Céline Bossard qui me fait l'honneur de présider cette thèse.

Céline, ce travail est l'occasion de t'exprimer mon profond respect. Je te remercie pour la qualité de ton enseignement et ton accompagnement tout au long de mon internat.

Madame le Docteur Claire Toquet qui me fait l'honneur de diriger cette thèse.

Claire, je te remercie de m'avoir fait confiance pour ce travail. Je te remercie également pour ton encadrement, ta disponibilité et ta réactivité infaillible (même le 24 décembre et le 1^{er} janvier tu as toujours su te rendre disponible), du temps que tu y as consacré, pour tes précieux conseils ainsi que pour ton enseignement en pathologie.

Madame le Docteur Anne Cesbron, Madame le Docteur Sabine Pattier et Monsieur le Docteur Guillaume Lamirault, qui me font l'honneur d'être membre de mon jury de thèse.

Anne, je vous remercie pour votre accueil chaleureux dans votre laboratoire. Merci également pour le temps que vous m'avez accordé pour mener à bien ce projet, pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail et pour tous vos conseils.

Sabine, je te remercie d'avoir imaginé ce travail. Je te remercie également du temps que tu y as consacré. Je t'exprime toute mon admiration quant à l'attachement et à la bienveillance que tu portes à tes patients.

Guillaume, je vous suis très reconnaissante de juger mon travail et vous remercie d'avoir contribué à la sélection de la population de ce travail.

Je souhaite également remercier sincèrement,

Le Docteur Stéphanie Malard-Castagnet. Stéphanie, je te remercie pour tous tes conseils, ta disponibilité et pour les connaissances que tu as su me transmettre en immunologie. Je t'exprime toute mon admiration quant à la passion avec laquelle tu exerces ton métier, ton enthousiasme et ta bonne humeur.

Le Docteur Christine Sagan. Christine, je te remercie pour la qualité de ton enseignement en pathologie. Merci pour tous les précieux conseils que tu as pu me donner tout au long de mon internat, notamment autour de notre fameux thé. Je t'exprime toute mon amitié.

Sylvie Cury pour avoir réalisé la technique du C1q.

Lucie Planche pour avoir effectué les analyses statistiques.

Les Docteurs Didier Branquet, Elisabeth Cassagnau, Marie Denis, Laure Droy, Yvette Ducournau, Marie-Françoise Heymann, Frédérique Jossic, Madeleine Joubert, Christine Kandel, Christian Labois, Delphine Loussouarn, Anne Moreau, Jean François Mosnier et Karine Renaudin, pour m'avoir accompagné tout au long de ma formation au CHU de Nantes.

Les Docteurs, Marie Christine Chapeau, Stéphanie Dimet, Aude Hélène Pavageau, Odile Savel, pendant ces deux bons semestres passés en leur compagnie à La Roche sur Yon. Je remercie tout particulièrement le Dr François Leclair pour tous ces bons conseils en pathologie et pour tous les bons moments passés ensemble.

Les Docteurs Anne Croué, Sophie Michalak, Marie Christine Rousselet, Audrey Rousseau, Stéphane Triau, Kouka et Abdelmagid pour m'avoir accueilli et formée le temps d'un semestre au CHU d'Angers.

Tous mes co-internes Charly, Clotilde, Delphine, Eva (Super semestre avec toi merci pour James !), Juliette, Marie G, Othman, Salim, Oli.

L'équipe de sérologie du service HLA de l'EFS, pour leur accueil chaleureux,

Les secrétaires et techniciens des services d'anapath, avec qui j'ai eu grand plaisir à travailler.

Une pensée en terminant ce travail,

Pour tous les amis de collège, lycée et de fac,

Véro une énorme pensée pour notre externat (pour tous les bons mais aussi les mauvais moments passés en se serrant les coudes), ça y est on y est arrivé !

Annabelle, une belle pensée pour toute notre amitié qui commence à dater !

Florence, bientôt ce sera toi, de beaux voyages nous attendent !

Alice, Marco, Vanessa, Maud, Pierre, Florent M, Rida, Camille, Mélanie, Audrey, Sabine, Sophie, Marion, Ingrid, Pauline, Alexandra, Sam, Robin, Lilie, les trompettes de Fallopes, les covituteurs de la Roche et pour tous les autres que j'aurais pu oublier...

Pour mes parents, pour ma famille, Béné, Valentin, mes grand parents (Josette, Victor mais aussi ceux qui n'auront pas pu me voir devenir docteur : ma petite mamie Guite, papi et mamie Jaud), pour mes oncles, tantes et cousins. Merci pour votre soutien depuis tant d'année.

Enfin un très grand merci à mon Florent, merci pour ton soutien et ta contribution à ce travail (mon biostatisticien) !

A Florent, avec tout mon amour.

Contenu

Liste des abréviations	6
I - Introduction.....	7
II - Revue générale.....	9
1 - Le système HLA, molécules du soi à l'origine des mécanismes physiopathologiques du rejet.....	9
Structure et expression des molécules HLA	10
Les différents types de rejet :	13
2 - Diagnostic de rejet aigu et subaigu	17
Manifestations cliniques de rejet	17
Suspicion biologique de rejet humoral : les anticorps anti greffon.....	17
Diagnostic histologique de rejet	22
3 - Vasculopathie cardiaque d'allogreffe (CAV).....	27
Définition.....	27
Description histologique des lésions de CAV	27
Paramètres immunologiques et non immunologiques participant au développement des lésions de CAV.....	31
Diagnostic et prise en charge de la CAV	33
4 - Nécessité de nouveaux marqueurs prédictifs	37
III - Travail expérimental.....	39
1 - Objectif des travaux.....	39
2 - Patients et méthodes	41
Définition de la vasculopathie d'allogreffe	41
3 - Résultats	49
4 – Discussion	62
IV - Conclusion et perspectives	70
V – Bibliographie	71
VI - Annexes.....	76
Annexe 1	76
Annexe 2	77
Annexe 3 :	79

Liste des abréviations

ACR = Rejet cellulaire (*Acute cellular rejection*)

AMR = Rejet humoral (*Antibody mediated rejection*)

BEM = Biopsie EndoMyocardique

CAV = Vasculopathie Cardiaque d'Allogreffe (*Cardiac Allograft Vasculopathy*)

CMR = IRM Cardiaque (*Cardiac magnetic resonance*)

CMV = Cytomégalovirus

CPA = Cellule Présentatrice d'Antigène

DSA = Anticorps Spécifique du Donneur (*Donor Specific Antibody*)

HLA = Antigène des Leucocytes Humains (*Human Leucocyte Antigen*)

Ig = Immunoglobuline

ISHLT = Société Internationale de Transplantation Cardiaque et Pulmonaire (*International Society for Heart and Lung Transplantation*)

IVUS = Ultrasonographie intravasculaire (*IntraVascular UltraSound*)

LCT = Lympho Cyto Toxicité

LMX = Luminex (technique)

MCG = Maladie Coronaire du Greffon

MDCT = Coroscanner (*Multi-detector computed tomography*)

MFI = Moyenne des Intensités de Fluorescence (*Mean Fluorescent Intensity*)

PBR = Région de fixation au peptide (*Peptide Binding Region*)

PCR = Réaction de polymérisation en chaîne

PCR-SSO = Réaction de polymérisation en chaîne « oligosonde spécifique »

PCR-SSP = Réaction de polymérisation en chaîne « séquence spécifique »

TCR = Récepteur des Cellules T (*T Cell Receptor*)

I - Introduction

Malgré les progrès et les innovations dans le domaine des techniques d'assistance circulatoire, la transplantation cardiaque demeure le traitement de référence de l'insuffisance cardiaque terminale (infarctus, cardiomyopathies). Environ 400 greffes cardiaques sont réalisées chaque année en France (423 en 2014), dont une vingtaine au CHU de Nantes. Les résultats, en termes de morbi-mortalité à 1 an de la transplantation cardiaque, sont très satisfaisants. En effet, le rapport de l'agence de Biomédecine 2014 dévoile un taux de survie à un an, pour la période 1993-2013, de 74,9%. Ces résultats sont cependant un peu inférieurs à ceux du registre de l'ISHLT 2014 selon lequel la survie à un an, pour la période 2009-2013, était de 86% (Lund et al. 2015).

Malgré les progrès dans le domaine de l'immunosuppression et de la réanimation, le rejet aigu est une des causes principales de décès la première année de greffe (environ 8% des décès selon le rapport de l'ISHLT (Lund et al. 2015). En revanche, après 5 ans de greffe, les tumeurs malignes et la maladie coronaire du greffon (MCG) ou vasculopathie cardiaque d'allogreffe (CAV) deviennent les principales causes de décès du patient. La CAV est une pathologie spécifique des coronaires, d'installation progressive, avec une composante immune prépondérante. Cette pathologie concerne au moins 30% des patients à 5ans.

Le rejet humoral (AMR) semble être un facteur majeur prédisposant au développement de cette pathologie (A. Loupy et al. 2015), (Jansen et al. 2015). Il est médié par la réponse allo-immune impliquant les anticorps du receveur dirigés spécifiquement contre les antigènes du donneur (DSA : donor specific antibody), et tout particulièrement ceux dirigés contre le système HLA (Human Leucocyte Antigen). L'activation de la voie classique du complément par ces anticorps est reconnue comme l'un des mécanismes sous-tendant le rejet humoral (G. Chen et al 2011).

En cas d'activation de cette voie, **la fixation des DSA à la sous-unité C1q du complément** constitue la première étape de cette activation. De façon intéressante, il a été démontré en transplantation rénale, qu'une évaluation de la capacité de fixation des DSA à cette sous unité C1q pouvait être utile à la fois pour stratifier les patients à risques de rejet humoral mais surtout pour stratifier ceux à risque de perte du greffon rénal (A. Loupy et al. 2013).

Ce travail préliminaire a donc pour objectif principal d'évaluer si la capacité de fixation des DSA à la sous-unité C1q du complément peut participer à la stratification du risque de survenue de CAV. Les objectifs secondaires sont d'évaluer également les marqueurs histologiques et immunologiques actuellement étudiés en pratique courante. Cette stratégie a comme finalité d'adapter au mieux le suivi et la prise en charge des patients en fonction de ce risque.

II - Revue générale

1 - Le système HLA, molécules du soi à l'origine des mécanismes physiopathologiques du rejet

Les molécules du système HLA (Human Leukocyte Antigen), protéines transmembranaires présentes à la surface des cellules de l'organisme, permettent au système immunitaire, de distinguer le « soi » du « non soi ».

Tout comme pour le système ABO, les différents antigènes HLA présents chez un même individu sont identiques, mais sont variables d'un individu à l'autre (polymorphisme). Ces antigènes sont codés par **les gènes du CMH** (Complexe majeur d'histocompatibilité - Figure 1). Les gènes du CMH, localisés sur le bras court du chromosome 6, se divisent en 3 régions distinctes qui s'organisent, du télomère au centromère, selon l'ordre suivant : la région de classe I, codant pour les molécules HLA de classe I, la région de classe III, codant pour des protéines n'intervenant pas dans la présentation antigénique, et enfin la région de classe II codant pour les molécules HLA de classe II (Anat R. Tambur et al. 2005).

La transmission de ces gènes est **autosomique dominante, haplotypique en bloc** (un haplotype A-C-B-DR-DQ-DP d'origine maternelle et un haplotype A-C-B-DR-DQ-DP d'origine paternelle, pour chaque individu). Ces gènes sont exprimés de façon **codominante** (Figure 2).

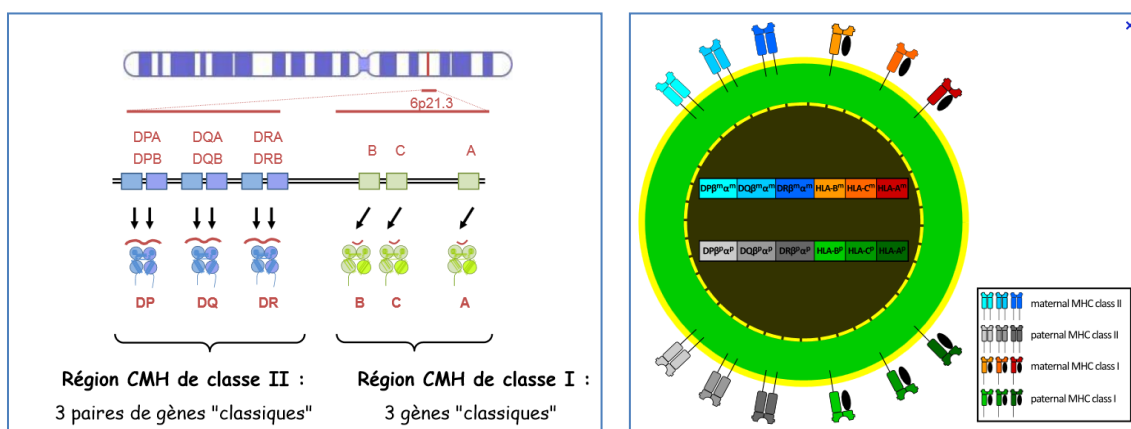


Figure 1 : Gènes du Complexe Majeur d'histocompatibilité situés sur le bras court du chromosome 6.

Figure 2 : Expression codominante des gènes

Structure et expression des molécules HLA

Les deux classes principales de molécules HLA, I et II, diffèrent par leurs structures.

Les molécules de classe I, HLA-A,-B, et C(w), sont constituées de deux chaînes : alpha et béta2 microglobuline, associées de façon non covalente. La chaîne alpha, chaîne lourde transmembranaire, est codée par les gènes HLA-A, B ou C(w). Elle se compose de 3 parties : une partie intracellulaire (très courte), une partie transmembranaire et une partie extracellulaire constituée elle-même de trois domaines : alpha 1, 2 et 3. (Figure 3) La chaîne légère béta2 microglobuline, monomorphe, n'est pas codée par le CMH mais par un gène situé sur le chromosome 15. Elle assure le maintien de la conformation tridimensionnelle de la protéine (Anat R. Tambur et al. 2005).

Les molécules de classe I sont exprimées à la surface de la quasi-totalité des cellules nucléées de l'organisme, mais le sont en quantité variable. Il existe une quantité très importante de ces protéines à la surface des cellules du système immunitaire et des cellules du revêtement tissulaire et vasculaire notamment. A noter que les molécules HLA-A et B sont bien plus exprimées quantitativement que les molécules HLA-C.

Les molécules de classe II, molécules DR, DQ, DP, de conformation tridimensionnelle, sont constituées de deux chaînes lourdes (alpha et béta) associées de manière non covalente et codées toutes deux, par les gènes du CMH de classe II : HLA-DR A et B, HLA-DQ A et B, HLA-DP A et B. L'expression de ces protéines se limite à l'état basal aux cellules présentatrices d'antigènes à savoir ; les lymphocytes B, les monocytes, les macrophages et les cellules dendritiques. HLA-DR est bien plus exprimée quantitativement que HLA-DP et HLA-DQ. L'expression des molécules HLA est inductible par les cytokines inflammatoires.

A noter la présence dans chacune de ces 2 classes, d'une région caractéristique : la **région de liaison au peptide antigénique = PBR** (Peptide Binding Region) formée par les domaines alpha 1 et alpha 2 pour les molécules HLA de classe I et par les domaines alpha1 et béta 1 pour les molécules HLA de classe II. Cette région formant une petite poche dans laquelle se loge le peptide antigénique, est la région reconnue par le récepteur des cellules T (TCR : T cell receptor) du lymphocyte.

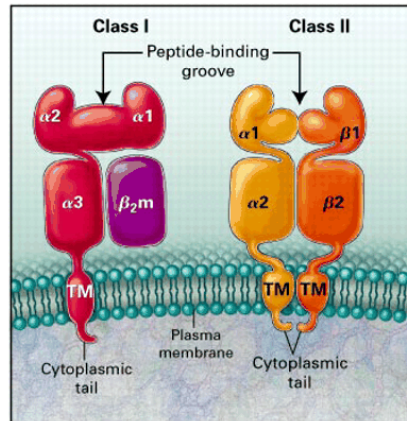


Figure 3 : Structure des molécules HLA

Polymorphisme et mise en évidence des molécules HLA

Le polymorphisme génique est très important, notamment pour les molécules de classe I. En 2006, on dénombrait par exemple, 489 séquences nucléotidiques pour la série allélique A. Le polymorphisme des séquences est concentré dans les **zones dites « hypervariables »**, localisées au niveau des exons 2 et 3 et correspondant aux domaines alpha 1 et alpha 2 de la chaîne alpha des molécules de classe I et au niveau de l'exon 2 codant pour le domaine bêta1, pour les molécules de classe II (De Santis et al. 2013).

La fréquence d'un antigène HLA dans une population est variable selon son origine géographique. HLA-A*02 est par exemple présent chez 49% de la population caucasienne et HLA-A*11 chez 30% de la population thaïlandaise. Dans l'Annexe 1, on observe les haplotypes les plus représentés en France.

Les techniques de mise en évidence de ce polymorphisme ont beaucoup évolué durant ces dernières années. Les techniques sérologiques, biochimiques et cellulaires mettant en évidence le polymorphisme antigénique ont été abandonnées au profit des techniques de biologie moléculaire plus sensibles et plus spécifiques. Après extraction de l'ADN de leucocytes circulants, ces techniques mettent en évidence, le polymorphisme allélique par les techniques de PCR classiques et séquençage, ou encore par PCR-SSP (séquence spécifique) ou PCR-SSO (oligosonde spécifique),(De Santis et al. 2013).

Implication du système HLA dans la réaction immunitaire

Le système immunitaire a pour mission de reconnaître et d'éliminer les structures étrangères à l'organisme. Pour répondre à cet objectif, **l'immunité innée** mobilise de nombreuses cellules telles que les macrophages, polynucléaires et cellules dendritiques, usant de nombreux mécanismes de défense non spécifiques, dont notamment, la phagocytose, pour éliminer tous les éléments pathogènes.

En cas de persistance de l'allo-agression, **les voies de l'immunité acquises** sont mobilisées dans un second temps, via les molécules HLA. **La voie cellulaire** permet, par activation des lymphocytes T spécifiques, la lyse des cellules porteuses de cet antigène. **La voie humorale** permet, par activation de lymphocytes B spécifiques, la synthèse d'anticorps solubles. La fixation des anticorps aux antigènes permet de neutraliser un élément pathogène et favoriser sa phagocytose, mais permet également, l'activation de **la voie classique du complément** (Annexe 2).

Les molécules HLA sont impliquées dans la **sélection** des lymphocytes T naïfs et jouent un rôle dans la **stimulation des lymphocytes T mémoires** au sein des organes lymphoïdes.

Toutes les cellules de l'organisme porteuses des molécules HLA de **classe I**, peuvent, lorsqu'elles sont pathologiques, présenter des peptides d'origine **endogène (peptide viral, tumoral...)**. Ces molécules HLA sont alors reconnues par le TCR des **lymphocytes T CD8+** (cytotoxiques). Les molécules CD8 interagissent avec une région faiblement polymorphe de la molécule HLA pour stabiliser l'interaction TCR-peptide.

Les **cellules présentatrices d'antigènes** (macrophages, cellules dendritiques...), impliquées dans la réponse immunitaire innée et porteuses de molécules HLA de **classe II** peuvent présenter des peptides d'origine **exogène (bactéries...)**. Ces molécules HLA vont entrer spécifiquement en contact avec **les lymphocytes CD4+** (auxiliaires).

Enfin, il est important de noter que des molécules HLA différentes de celles que porte l'organisme, seront reconnues par celui-ci, et notamment par **les lymphocytes B**, comme de véritables antigènes pathogènes (Figure 4).

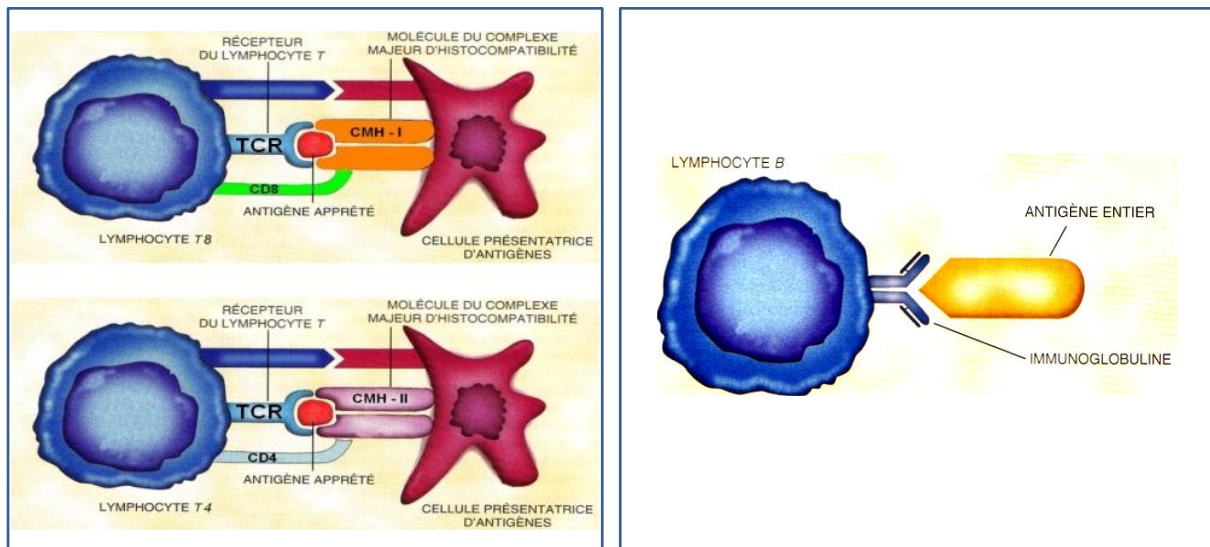


Figure 4: Reconnaissance des molécules HLA par le système immunitaire

Les différents types de rejet :

Le rejet cellulaire, premier type de rejet identifié, est médié par l'immunité cellulaire. Le rejet humoral, encore appelé parfois rejet vasculaire, est médié par la voie humorale. La cellule endothéliale, cellule du revêtement vasculaire, en est la principale cible antigénique.

Mécanismes immunologiques communs

Au moment de la revascularisation du greffon, le système immunitaire du receveur reconnaît les molécules HLA du donneur et les interprète, dans le cas où elles ne sont pas identiques à celles du receveur, comme des molécules étrangères. Cette incompatibilité correspond à un **mismatch**. Une série de mécanismes immunologiques va alors se mettre en place (prolifération, activation cellulaire) pour aboutir, en l'absence de traitement immunosuppresseur, au rejet d'allogreffe.

Reconnaissance du greffon, via les cellules présentatrice d'antigènes :

Le phénomène de **reconnaissance directe**, est médiée par les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) **du donneur**. Ces cellules vont migrer vers les organes lymphoïdes du receveur et présenter leurs molécules HLA chargées d'un peptide antigénique, aux cellules immunocompétentes, qui les reconnaîtront comme étrangères. Cette reconnaissance se fait principalement par les lymphocytes T auxiliaires CD4+ (Schmauss et Weis 2008).

Le phénomène de **reconnaissance indirecte** est médiée quant à lui, par les cellules présentatrices d'antigènes **du receveur**. Celles-ci, internalisent les molécules HLA du donneur et migrent vers les organes lymphoïdes. Les molécules HLA de classe II du receveur (contenant des peptides HLA du Donneur) entrent en interaction avec le TCR des lymphocytes T CD4+ du receveur (Schmauss et Weis 2008).

Activation lymphocytaire T4 et recrutement du système immunitaire

La **liaison du complexe HLA-peptide** au lymphocyte T auxiliaire CD4+, entraîne son **activation** puis sa prolifération monoclonale. Cette prolifération permet de donner une amplitude suffisante au phénomène pour être efficace. L'activation des lymphocytes auxiliaires aboutit, via la synthèse d'interleukines, à **l'activation, à la différenciation, et à la prolifération** des autres cellules immunocompétentes recrutées (lymphocytes T CD8+ et lymphocytes B).

Lorsque ces populations lymphocytaires sont activées, celles-ci s'orientent en direction du greffon pour retrouver les antigènes pour lesquels elles ont été recrutées.

Dysfonction ou activation endothéliale

Comme dans tout contexte de réaction inflammatoire, la cellule endothéliale va entrer dans un état d'activation. Elle va alors exprimer des cytokines et des chimiokines, synthétiser des molécules d'adhésion, entrer dans un état pro-coagulant (synthétisant le facteur de Von Willebrand).

Des phases effectrices différentes :

Mécanisme du rejet cellulaire

L'activation de la cellule endothéliale **favorise la diapédèse des cellules immunitaires recrutées**. Cette diapédèse se déroule selon les 3 phases suivantes : capture et roulement, arrêt par adhésion forte et passage trans-endothéliale des cellules immunitaires. Le rejet cellulaire a lieu lorsque les différents éléments recrutés ont traversé l'endothélium vasculaire et **agressent les cardiomyocytes** du greffon. Les différents protagonistes agissent alors sous l'action de cytokines produites par les LT cd4+, en utilisant le pouvoir cytotoxique des lymphocytes T cd8+, et celui des anticorps produits par les lymphocytes B.

Mécanisme du rejet humoral

Dans un contexte d'agression, la cellule endothéliale activée va exprimer, en plus des molécules HLA de classe I, des molécules de classe II et va donc, devenir la première cible de l'arsenal immunitaire du receveur. **La fixation d'anticorps circulants** à sa cible antigénique active la **voie du complément** (Annexe 2) et permet la formation du complexe d'attaque membranaire qui aboutit à la lyse cellulaire. Cette activation du complément, en libérant notamment **la protéine C5a**, médiateur proinflammatoire, contribue également à l'entretien de l'état d'activation de la cellule endothéliale et aux recrutements d'autres cellules immunitaires notamment des macrophages. Enfin **les cellules NK** participeraient également aux lésions endothéliales via le mécanisme de cytotoxicité cellulaire médiée par les anticorps (ADCC) (Figure 5). Trois types de rejet humoraux ont été définis selon les mécanismes impliqués et le moment précoce ou tardif auquel ils surviennent.

Le rejet humoral hyper aigu survient dans les premières heures après l'anastomose vasculaire. En cause, la fixation d'anticorps anti-ABO ou anti-HLA préformés lors d'une allo-immunisation antérieure induisant une réaction immunitaire intense et fulgurante. En conséquence, la survenue de thromboses, de nécrose, et une altération rapide du greffon. Actuellement ce type de rejet est évité grâce à la mise en place de transplantation en compatibilité ABO et à la recherche d'anticorps anti-HLA avec réalisation de crossmatch virtuel puis réel.

Le rejet humoral aigu se manifeste au décours de la transplantation dans les premières semaines en l'absence de traitement immunosuppresseur ou parfois plus tardivement lors d'une diminution de l'immunosuppression. Il met également en scène une agression des cellules endothéliales par des anticorps anti HLA et non HLA mais cette fois-ci néoformés.

Enfin, **le rejet humoral chronique** semble être le résultat d'agressions répétées, intermittentes ou persistantes des cellules endothéliales par les anticorps anti greffon HLA et non HLA. Il semble être proportionnel au nombre d'épisodes de rejet aigu. Dans ce contexte d'agression et d'inflammation chronique, une prolifération des cellules musculaires lisses va progressivement épaissir et sténoser la lumière vasculaire aboutissant à la **maladie coronaire du greffon** dont les manifestations cliniques et histologiques seront détaillées ultérieurement.

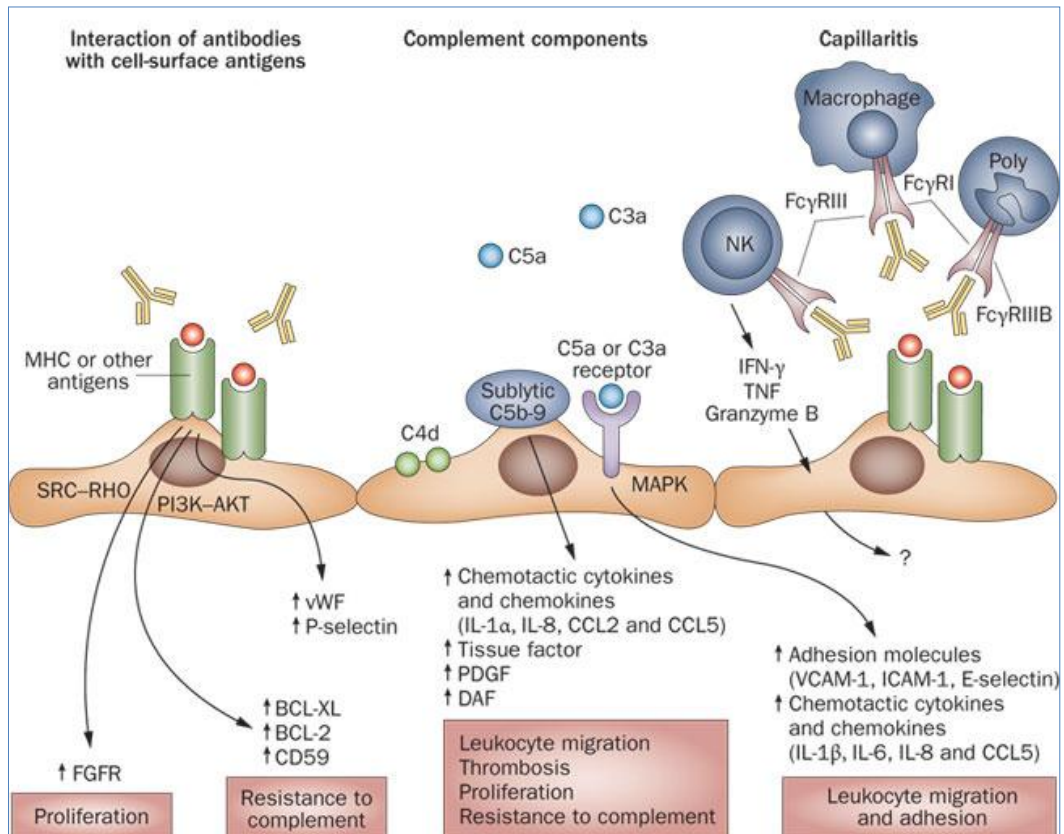


Figure 5: Mécanismes immunologiques du rejet humoral.

Les anticorps anti-CMH peuvent léser directement l'endothélium capillaire ou indirectement via la fixation du complément ou le recrutement de cellules inflammatoires via les récepteurs Fc. (Farkash et Colvin 2012)

2 - Diagnostic de rejet aigu et subaigu

Manifestations cliniques de rejet

Malgré les progrès des thérapeutiques immunosuppressives, le rejet aigu demeure un phénomène relativement fréquent survenant chez environ 10 % des patients greffés (Lund et al. 2013), (Costanzo et al. 2010). Qu'il soit cellulaire, humoral ou mixte, celui-ci est le plus **souvent asymptomatique** en raison, entre autre, de l'absence d'innervation du greffon. Lorsqu'il est symptomatique, il se manifeste par une dysfonction cardiaque qui peut être systolique, avec une diminution plus ou moins sévère de la fraction d'éjection à l'échographie (FEVG), mais aussi diastolique, avec un trouble du remplissage et un profil restrictif. La dysfonction du greffon peut conduire au décès soit par insuffisance cardiaque réfractaire, mais aussi, par mort subite. Il est donc important de ne pas ignorer ce diagnostic afin d'engager rapidement une thérapeutique adaptée.

Il faut également souligner que le rejet humoral est devenu ces dernières années, la préoccupation majeure du clinicien. En effet, malgré l'existence d'un arsenal thérapeutique de plus en plus important, (Eskandary et al. 2015), les résultats sont souvent insuffisants. Ce rejet humoral peut se présenter sous une forme aiguë précoce mais aussi sous une forme chronique tardive (Hodges et al. 2012).

Néanmoins, l'examen de référence dans ces différents contextes, demeure le diagnostic histologique effectué sur **biopsies endomyocardiques (EMB)**. Ces biopsies sont réalisées fréquemment et systématiquement au cours de la première année en post transplantation, la fréquence est dépendante des habitudes de chaque centre. De plus, elles seront réalisées en cas de suspicion clinique et/ou biologique de rejet aigu (Costanzo et al. 2010).

Suspicion biologique de rejet humoral : les anticorps anti greffon

L'identification de biomarqueurs non-invasifs et fiables permettant le dépistage du rejet aigu est un défi majeur qui n'a pour le moment pas trouvé de réponse suffisante en transplantation cardiaque. Actuellement, les seuls biomarqueurs recherchés en pratique quotidienne sont **les anticorps anti HLA de classe I ou II spécifiques du donneur**, encore appelés **DSA** (Donor Specific Antibody).

Définition

Classiquement, les anticorps anti-HLA sont des allo-anticorps apparus au décours de situations **d'allo immunisation** : une transfusion, une grossesse, ou une transplantation antérieure par exemple.

On appelle **apparition de Novo**, l'apparition en post transplantation d'anticorps dirigés contre le greffon.

Méthodes d'identification des anticorps anti-HLA

Les méthodes LCT (techniques de LymphoCytoToxicité complément dépendant- Figure 6), techniques de référence, mettent en évidence les anticorps anti-HLA par incubation de lymphocytes, dont le typage HLA est connu, avec le sérum du receveur. Ces techniques mettent en évidence les anti-HLA de classe I sur lymphocytes T et les anti-HLA de classe II sur lymphocytes B.

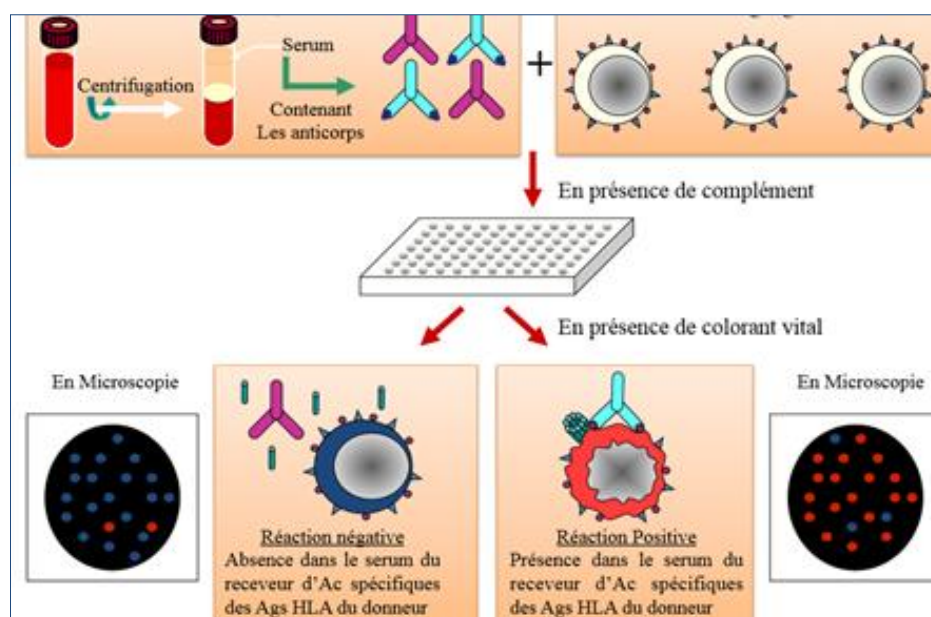


Figure 6: Principe de la technique de LCT

Depuis quelques années, de nouvelles techniques de mise en évidence des DSA se sont développées.

Le sérum testé en **technique Luminex (Figure 7)** est incubé avec un panel de billes, recouvertes d'antigènes HLA connus. Ces microbilles de polystyrène présentent un code couleur propre à chacune, permettant de les individualiser. Les anticorps anti-HLA présents dans le sérum se lient aux antigènes présents sur les billes, puis ce complexe est révélé par un anticorps anti IgG humain couplé à un fluorochrome. L'analyseur en Flux reconnaît le type de bille par le biais de son code couleur, puis détecte la présence ou non d'une fluorescence liée à la fixation d'un anticorps. Pour assigner le résultat, la moyenne d'intensité de fluorescence (**MFI = Mean Fluorescent Intensity**) des billes présentant le même code couleur (et donc le même type d'antigène HLA) est comparée à un seuil de positivité propre à chaque laboratoire. A Nantes, le seuil de positivité est fixé arbitrairement à 2000 de MFI.

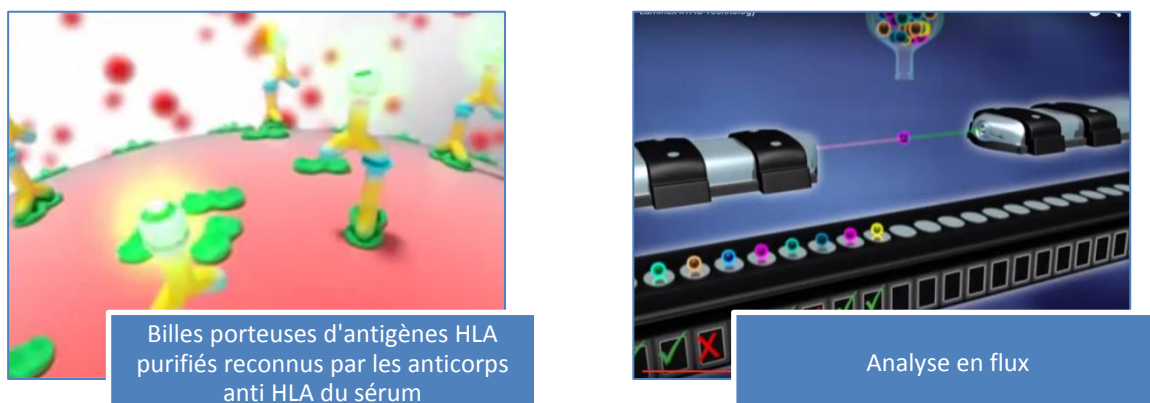


Figure 7: Principe de la technique Luminex

Le cross-match lymphocytaire en cytométrie en flux utilise le même principe que la technique LCT mais les lymphocytes sont dans un second temps fixé à un anticorps couplé à un fluorochrome, leur permettant d'être compté individuellement par un cytomètre en flux. Cette technique est réalisée pour mettre en évidence dans le sérum d'un individu la présence éventuelle d'allo ou d'auto-anticorps anti-lymphocyte T et/ou B. Cet examen est effectué dans le cas de greffes à risques, avant des greffes rénales familiales, en cas d'échec de transplantation. Le tableau 1, ci-dessous, résume les avantages et les limites de chaque technique.

Technique	Anticorps mis en évidence	Avantages et limites
Méthodes LCT (identification, cross match)	Détecte tous les anticorps cytotoxiques (Ig G1,3 surtout mais aussi Ig M)	Permet de quantifier l'immunisation en % Technique de référence
Luminex	Détecte uniquement les Ig G cytotoxiques ou non	Très spécifique, sensible, rapide Ne nécessite pas de cellules vivantes Facile à adapter aux situations cliniques d'urgences
Cross match lymphocytaire par cytométrie en flux	Détecte tous les anticorps cytotoxiques (Ig G1,3 surtout mais aussi Ig M)	Technique plus sensible et plus spécifique

Tableau 1: Avantages et limites de techniques de détection des anticorps anti HLA spécifiques du donneur.

Pathogénicité des anticorps anti-HLA spécifiques du donneur

Des études ont montré qu'en cas de **missmatch** (incompatibilité HLA), jusqu'à 50 % des patients vont développer des **DSA** au décours de leur transplantation (Ferrari-Lacraz, Tiercy, et Villard 2012).

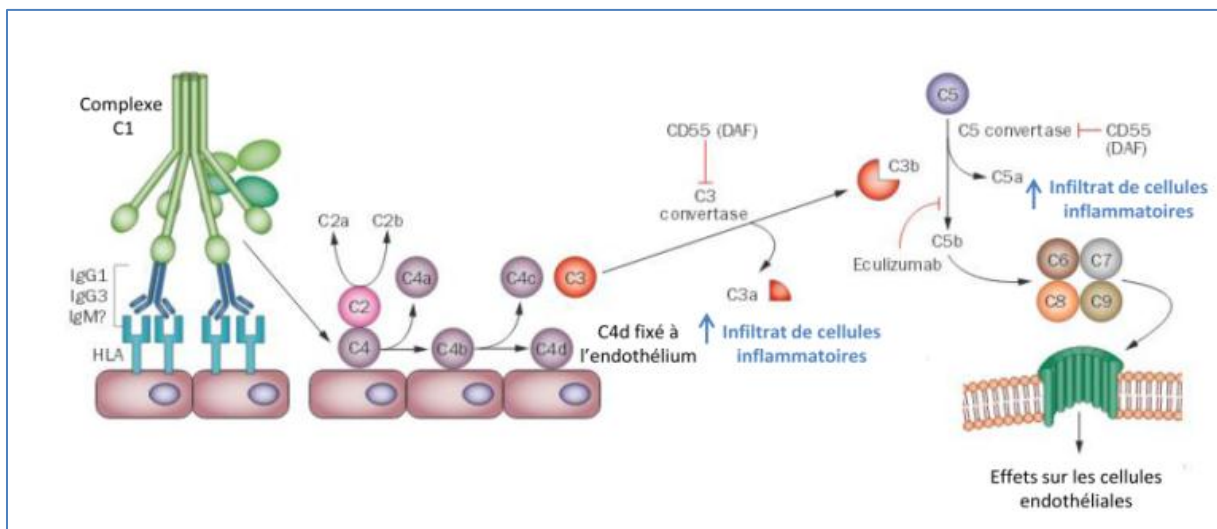
Il apparaît que la présence de DSA augmente le risque de rejet aigu et chronique et diminue les chances de survie du greffon. (Mao et al. 2007) Cependant, il semble qu'un certain nombre de patients transplantés conservent une bonne fonction d'organe malgré la présence de DSA dans leur sérum (Lefaucheur et al. 2010).

Les DSA n'ont donc pas tous le même pouvoir pathogène.

Nous avons vu précédemment que le principal mécanisme physiopathologique du rejet impliquant les DSA, **met en jeu l'activation de la voie classique du complément** (Figure 8). Le composant C1 (composé du C1q, du C1r et du C1s) se lie, via sa partie C1q, au complexe immun antigène-anticorps. Cette interaction aboutit, après une cascade d'activation, à la lyse cellulaire via la formation du complexe d'attaque membranaire. Il est actuellement possible **d'évaluer la capacité de fixation des DSA à la sous partie C1q** du composant C1 par technique Luminex et ainsi d'évaluer leurs pouvoirs pathogènes. Il a été notamment démontré en 2013, que l'évaluation de la capacité de fixation des DSA au complément peut

être utile pour identifier les patients à risque élevé de perte de reins allogreffés (Alexandre Loupy et al. 2013).

La compatibilité HLA reste cependant souhaitable pour garantir la meilleure survie du greffon possible car, si la différence de survie à court terme entre greffons compatibles et non compatibles diminue proportionnellement à l'apparition de nouvelles thérapeutiques immunosuppressives, les meilleurs résultats de survie à long terme sont obtenus avec des donneurs HLA-compatibles. Le développement de DSA *de Novo* est tout particulièrement délétère avec une augmentation du risque de rejet aigu et de rejet chronique supérieure (Lachmann et al. 2009).



La fixation des DSA aux molécules HLA présentes sur l'endothélium du greffé active le complexe C1.

Le C4d, produit de la dégradation du C4 se fixe sur l'endothélium vasculaire, au niveau du site de l'activation du complément C3a et C5a, médiateurs de l'inflammation, favorisent le recrutement des cellules inflammatoires.

Le complexe d'attaque membranaire peut également directement conduire aux lésions de l'endothélium.

D'après (Stegall et al, 2012).

Figure 8: Mécanismes de la voie classique du complément impliquée dans le rejet humoral.

Autres anticorps non anti-HLA

Il est important de noter que les anticorps anti-HLA spécifiques du donneur ne sont présents que chez environ 60% des patients ayant présenté un rejet humoral. Il semble donc que d'autres anticorps, intéressant d'autres cibles antigéniques, sont également mis en jeu dans le phénomène de rejet humoral.

Les anticorps anti-MICA non détectés par les techniques conventionnelles seraient probablement responsables de certains rejets humoraux.

Les anticorps anti-cellules endothéliales, les anticorps dirigés contre **la vimentine**, contre le **récepteur II de l'angiotensine**, contre les **antigènes mineurs d'histocompatibilité (AgmH)** semblent également jouer un rôle dans les mécanismes immunologiques de rejet.

La présence de DSA dans le sérum du patient greffé est donc un facteur prédictif reconnu de rejet mais ne peut cependant pas se substituer au diagnostic histologique.

Diagnostic histologique de rejet

Pendant les années 80, **plusieurs classifications** ont été développées pour grader le rejet en pathologie cardiaque ; la classification de Billingham de 1982 a souvent été utilisée.(Stewart et al. 2005a)

En 1990, afin d'homogénéiser les descriptions et faciliter la communication entre les cliniciens et les pathologistes, un système de gradation standardisé a été proposé par l'ISHLT (International Society for Heart and Lung Transplantation). Ce système de grading, facilement utilisable et bien reproductible, a largement été adopté pendant de nombreuses années.

En 2004, une réévaluation de ce classement a pourtant été nécessaire, devant les progrès réalisés dans la compréhension du rejet de greffe, notamment celle du rejet humoral, et face à l'apparition de nouvelles thérapeutiques (Tableau 2).

Le rejet cellulaire

Le rejet cellulaire est caractérisé par la présence d'**un infiltrat inflammatoire** de localisation périvasculaire et/ou interstitiel (entre les cardiomyocytes). Cet infiltrat est composé de lymphocytes, de macrophages et parfois de polynucléaires éosinophiles (Stewart et al. 2005b),(Figure 9).

La présence de neutrophiles, sauf dans la forme la plus sévère de rejet, doit faire évoquer un autre diagnostic (cicatrisation de lésion ischémique, présence d'un rejet humoral ou d'une infection par exemple). **Les plasmocytes** sont généralement absents dans le rejet cellulaire aigu. Leur présence suggère plutôt un effet Quilty, une cicatrisation d'une lésion ischémique ou un syndrome lymphoprolifératif.

La nécrose des cardiomyocytes ou myolyse est une autre caractéristique importante du rejet cellulaire, qui doit être traquée, étant parfois difficile à identifier. Le cardiomyocyte altéré présente alors un élargissement nucléaire et parfois même un volumineux nucléole. Il existe souvent en périphérie, un infiltrat inflammatoire d'interface agressant la cellule myocardique, lui conférant des limites cytoplasmiques irrégulières ou festonnées. On note souvent une distorsion architecturale associée. Cette nécrose est caractéristique des formes les plus graves de rejet cellulaire aigu.

La réalisation d'**immunohistochimie n'est pas recommandée** pour le diagnostic de rejet cellulaire.

Il est important de toujours éliminer les diagnostics différentiels :

Les lésions ischémiques périopératoires se caractérisent par la présence de nécrose de coagulation ou de nécrose en bande de contraction. Les cardiomyocytes sont dans ce cas souvent vacuolisés et un infiltrat inflammatoire, comportant neutrophiles, lymphocytes, macrophages et éosinophiles, est souvent associé.

L'effet Quilty, est un infiltrat endocardique nodulaire présent sur environ 10% à 20% des biopsies endomyocardiques. L'infiltrat peut être limité à l'endocarde ou peut s'étendre au myocarde sous-jacent pouvant être à l'origine de dommages cardiomyocytaires. Cette lésion différente des lésions de rejet cellulaire, ne fait pas l'objet d'une thérapeutique particulière. La densité de l'infiltrat, la présence de lymphocytes B et de plasmocytes, une vascularisation importante et un fond fibreux sont en faveur d'un effet quilty. L'immunohistochimie peut dans ce cas être une aide au diagnostic.

Les cicatrices de prise biopsiques antérieures peuvent également poser un problème diagnostique.

Enfin, les lésions **liées au cytomégalovirus (CMV) et à la toxoplasmose** peuvent être associées à un infiltrat lymphocytaire qui peut être confondu avec un rejet cellulaire aigu.

	Classification ISHLT 2004		Classification ISHLT 1990		Classification de Billingham 1982
0R	Pas de rejet	0	Pas de rejet	Pas de rejet	Pas d'infiltrat
1R	Rejet léger , infiltrat périvasculaire +/- interstitiel +/- au maximum un foyer unique de lésion myocytaire	1A 1B 2	Infiltrat focal, périvasculaire, +/- interstitiel, sans lésion myocytaire Infiltrat diffus, périvasculaire, +/- interstitiel, sans lésion myocytaire Un foyer d'infiltrat unique avec lésion myocytaire	Rejet aigu léger	Infiltrat cellulaire périvasculaire
2R	Rejet modéré , 2 ou plus foyers avec lésion myocytaire	3A	Plusieurs foyers d'infiltrat avec lésion myocytaire	Rejet aigu modéré	Infiltrat diffusant entre les myocytes
3R	Rejet sévère , infiltrat diffus avec plusieurs foyers de lésions myocytaires +/- œdème +/- suffusions hémorragiques +/- vasculite	3B 4	Infiltrat diffus avec lésion myocytaires Infiltrat diffus polymorphe avec lésions myocytaires étendues, +/- œdème +/- suffusions hémorragiques +/- vasculite	Rejet aigu sévère	Nécrose myocytaire, infiltrat hémorragique +/- polynucléaires

Indication de traitement : à partir du grade 1B ou 2 (1990), 2R (2004) : bolus de SOLUMEDROL 2.5 à 10 mg/kg/jour pendant 3 à 5 jours. Contrôle de la BEM à 7 jours.

Tableau 2: Classifications histologiques du rejet cellulaire.

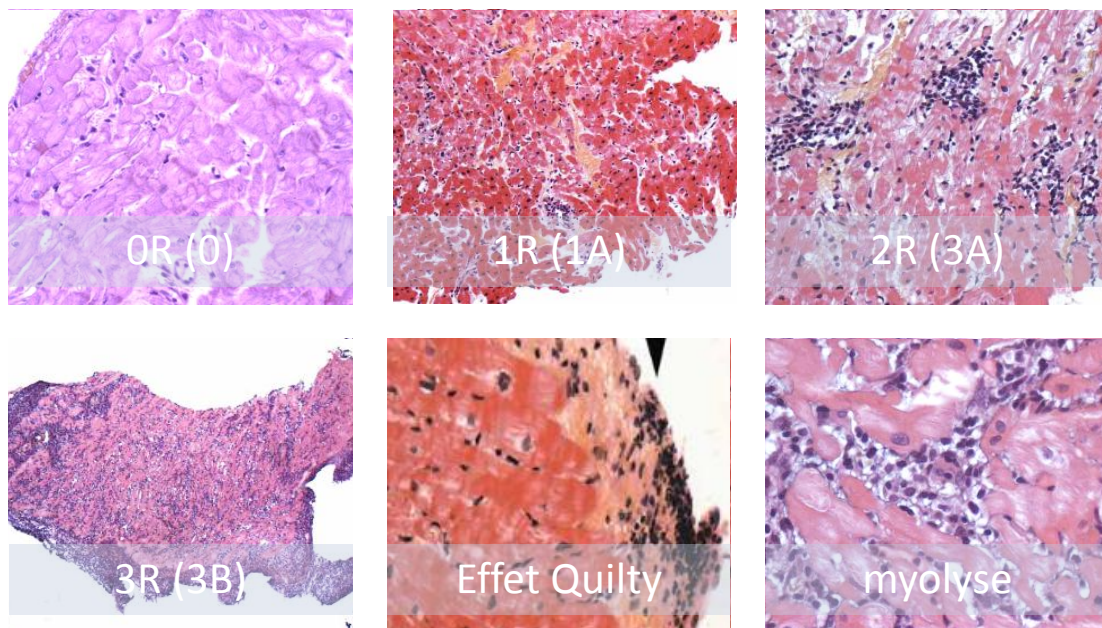


Figure 9: Photographies microscopiques des différents grades du rejet cellulaire
(Cours de DES national 2008, professeur F.Thivolet-Bejui)

Rejet humoral

Le rejet humoral se caractérise par la présence **d'une activation de la cellule endothéliale (turgescence)**, et par l'accumulation **de macrophages intravasculaires** (Figure 10). Un œdème interstitiel et des nappes de suffusions hémorragiques peuvent être également présents, parfois associés à des polynucléaires neutrophiles dans et autour de capillaires. Des thrombi intravasculaires et de la nécrose cardiomyocytaire sans infiltration cellulaire, peuvent aussi être observés (Stewart et al. 2005a).

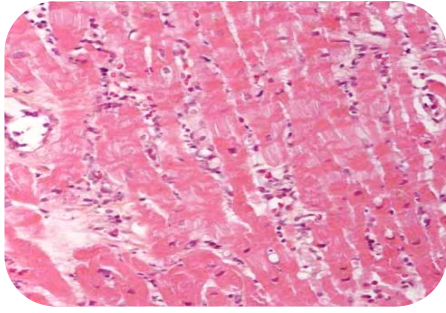
En immunohistochimie, on observe une **positivité du c4d : marquage linéaire circonférentiel, diffus, de plus de 50% des capillaires** et/ou **un immunomarquage des macrophages** dans les lumières des capillaires par l'anti **CD68** (marquage positif dans >10% des capillaires).

Le rejet humoral est classé en quatre grades (**Tableau 3** - Berry et al. 2011).

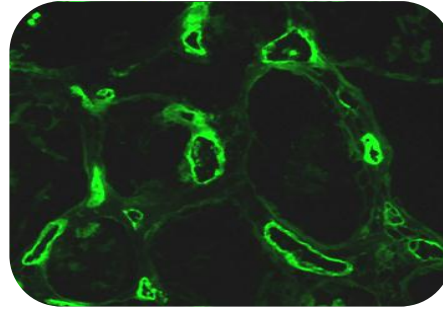
Le C4d est un marqueur indirect de l'activation de la voie classique du complément. Détectable sur coupe histologique, il témoigne de la fixation d'anticorps au niveau des cellules endothéliales. La technique est réalisée en routine, soit par immunofluorescence sur coupe congelée, soit par immunohistochimie sur coupe en paraffine. Cependant, l'interprétabilité du c4d est controversée, notamment en cas de marquage focal ou non vasculaire. Un certain nombre d'études ont également posé le problème de la présence de rejet humoral positif en l'absence d'immunomarquage associé (Sis et al. 2009).

pAMR0	Absence de rejet
pAMR1	Suspicion de rejet : critères histologiques (H+) ou critères immunohistochimiques (i+) de rejets
pAMR2	Rejet avéré, critères histologiques et immunohistochimiques positifs
pAMR3	Rejet grave, critères histologiques et immunohistochimiques positifs avec signes de gravité associés (hémorragie interstitielle, œdème, microthromboses, lésions myocytaires)

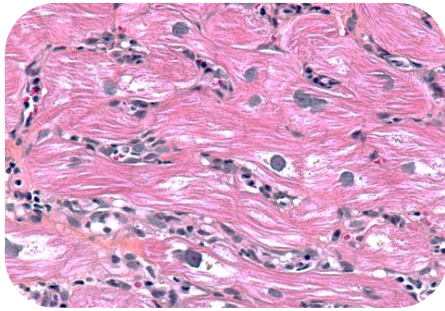
Tableau 3: Classification du rejet humoral



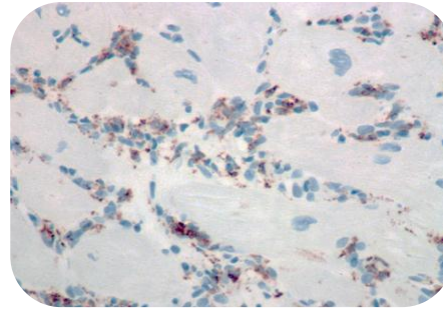
Rejet Humoral, critères histologiques:
Turgescences de cellules
endothéliales. (HES x10)



Rejet Humoral, critères
immunohistochimique: C4d positif.
Marquage linéaire circonférentiel, diffus,
de plus de 50% des capillaires. (IF x40)



Rejet Humoral: Macrophages
intravasculaires. (HES x40)



Rejet Humoral. Immunomarquage des
macrophages par l'anti CD68 . (IHC x40)

Figure 10: Photographies microscopiques de rejet humoral

A noter que les lésions de rejet cellulaire et de rejet humoral peuvent se combiner dans certains cas, en associant les deux types de lésions décrites précédemment. On parle alors de **rejet mixte**.

3 - Vasculopathie cardiaque d'allogreffe (CAV)

Au cours de la première année post greffe, les principaux risques de décès sont liés à la survenue d'une défaillance du greffon, d'une infection ou d'un rejet aigu. Après 3 ans, ces risques s'amenuisent ; laissant place à d'autres facteurs pouvant causer le décès. La vasculopathie cardiaque d'allogreffe devient alors la première cause de perte du greffon (42% des greffés présentent à 5 ans une CAV, et 50 % de ceux présentant une CAV sévères décéderont ou seront retransplantés) et représente la seconde cause de décès du patient greffé, juste après le développement d'un processus malin (Lund et al. 2013). La vasculopathie d'allogreffe est donc l'un des facteurs majeurs limitant la survie du greffon à long terme et fait l'objet d'une attention particulière de la part du clinicien.

Définition

La **vasculopathie d'allogreffe cardiaque** (CAV = Cardiac Allograft Vasculopathy) encore nommée, artériopathie d'allogreffe, maladie vasculaire du greffon cardiaque ou artériosclérose du transplant cardiaque, se caractérise par un **épaississement concentrique et diffus** du mur vasculaire. Elle intéresse principalement les **vaisseaux épicaudiques de petits et de gros calibres**. Cet épaississement, de développement progressif, engendre des **sténoses** pouvant être cause d'infarctus du myocarde, de troubles du rythme, et de mort subite.

Description histologique des lésions de CAV

Les lésions de CAV atteignant le réseau coronarien au même titre que les lésions d'athérosclérose commune ; il est important de faire la distinction entre les deux (Figure 11).

L'hyperplasie fibromusculaire intinale est l'une des caractéristiques principales qui permet de les distinguer. Contrairement aux lésions d'athérosclérose qui sont excentrées, l'hyperplasie fibromusculaire se définit comme un épaississement **concentrique** de l'intima. Conséquence d'une prolifération anormale de cellules musculaires lisses, l'hyperplasie fibromusculaire est pathognomonique de la maladie vasculaire du greffon et se compose d'amas de collagène, de matrice extracellulaire et de cellules musculaires lisses (Poher et al. 2014).

Une autre différence notable avec les lésions d'athérosclérose, est, l'atteinte dans la CAV, des **vaisseaux (artères et veines) de petits et de gros calibres** et ce, **de façon proximale et distale**, avec atteinte du réseau vasculaire intramyocardique (Lu et al. 2011).

Cependant l'ensemble des lésions constituant la maladie vasculaire du greffon semble s'intégrer dans un modèle plus complexe. Récemment, Loupy et Al, dans un travail rétrospectif évaluant les caractéristiques histopathologiques de 40 cœurs de patients retransplantés présentant des lésions de CAV, ont pu montrer que **ces lésions étaient plus polymorphes**, associant ou non, des lésions **d'artériosclérose (hyperplasie fibromusculaire intinale)**, à des lésions **d'athérosclérose et d'inflammation macrovasculaire et microvasculaire**. En examinant l'ensemble de l'arbre vasculaire de ces cœurs pathologiques, les auteurs ont élaborés un système de classement semi-quantitatif en « pattern » afin d'évaluer de nouvelles anomalies structurelles de CAV (A. Loupy et al. 2015).

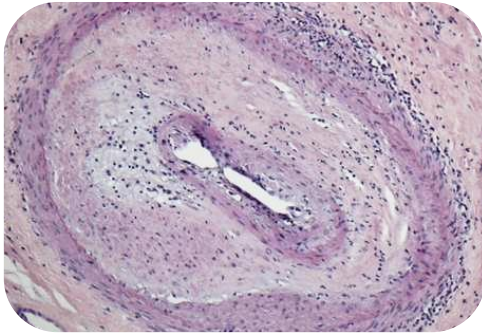
Des **lésions athéromateuses** ainsi que des **calcifications** peuvent donc se surajouter aux lésions d'hyperplasie fibromusculaire. La présence de lésions athéromateuses décrite sur des transplants pédiatriques démontre bien que l'athérosclérose accélérée est une manifestation caractéristique de la maladie vasculaire du greffon (Lu et al. 2011).

Des lésions inflammatoires peuvent également faire partie des lésions de maladie vasculaire du greffon. **L'inflammation macrovasculaire** se caractérise par la présence d'un infiltrat inflammatoire chronique composé de macrophages et de lymphocytes T, siégeant **dans au moins une des couches du mur vasculaire**. On peut parfois noter une interruption de la limitante élastique interne associée. Il est également rapporté dans la littérature de véritables lésions d'artérite avec amincissement de la média (Segura et Buja 2013).

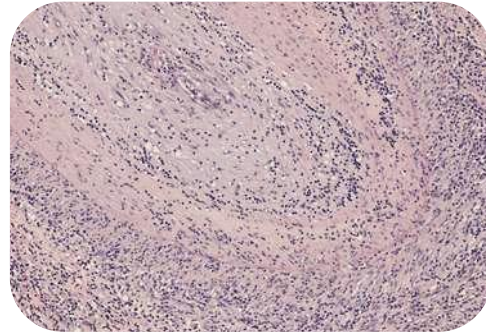
Le tableau 4 compare les caractéristiques histologiques des lésions de vasculopathie d'allogreffe avec celles des lésions d'athérosclérose commune (Seki et Fishbein 2014).

	Vasculopathie cardiaque d'allogreffe	Athérosclérose commune
Vaisseaux touchés	Petits et gros vaisseaux épicardiques Artères intramyocardiques Veines	Artères coronaires épicardiques Artères intramyocardiques épargnées Veines épargnées
Sténoses	concentriques	Excentrées
Distribution des lésions	Diffuse, de la partie proximale à la partie distale des vaisseaux	Sténoses focales des artères proximales
Calcifications	Le plus souvent non vues, si présentes n'est pas un marqueur de sévérité	Fréquentes
Athérome	Fréquent	Caractéristique principale
Inflammation	Visible dans l'intima, la média et l'adventice avec destruction de l'artère	Limitée à l'intima

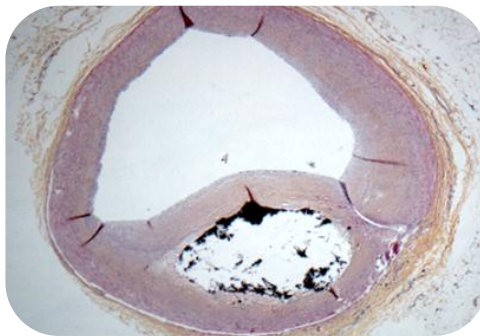
Tableau 4: Caractéristiques histologiques de vasculopathie d'allogreffe et d'athérosclérose commune (d'après Seki et Fishbein et al, 2014)



Hyperplasie fibromyointimale concentrique avec artériosclérose et infiltrat inflammatoire à la jonction média-adventice. (HES x 10)



Vascularite: atteinte des 3 tuniques par un infiltrat inflammatoire mononucléé avec hyperplasie intimale myofibroblastique associée. (HES x 10)



Athérosclérose commune: plaque asymétrique calcifiée. (HES x 10)

Figure 11: Photographies microscopiques de lésions vasculaires de vasculopathie d'allogreffe et d'athérosclérose commune

Paramètres immunologiques et non immunologiques participant au développement des lésions de CAV

Le développement de lésions vasculaires chroniques est la conséquence d'une réponse immunitaire mettant en jeu **de nombreux mécanismes immunologiques** détaillés précédemment.

Il a été établi notamment, que le rejet humoral chronique est synonyme d'agression répétée, intermittente ou persistante des cellules endothéliales par les anticorps anti greffons HLA et non HLA. Loupy et al concluent en l'existence d'une inflammation continue tout le long de l'arbre vasculaire coronarien. Il existerait probablement un processus de rejet humoral continu et indolent chez un certain nombre de patients allogreffés (A. Loupy et al. 2015).

La survenue de rejets cellulaires aigus répétés contribueraient également au développement de ces lésions (Ho et al. 2011).

Enfin, d'autres déterminants non immunologiques sont également des facteurs de risques de développement de lésions de CAV (Figure 12).

Paramètres du donneur délétères pour la survie du greffon

Un **donneur d'âge avancé**, présentant **des facteurs de risques cardiovasculaires classiques** (HTA ; dyslipidémie, hyperglycémie) a un risque plus élevé de transmettre au receveur un greffon présentant des lésions d'athérosclérose sous-jacentes. Il a été démontré que ces lésions antérieures à la greffe évoluent de façon accélérée sous l'effet de la réponse immunitaire,(Schumacher, Gajarski, et Urschel 2012); (Vecchiati et al. 2015).

Il semblerait qu'un décès, dans un contexte de **mort encéphalique « traumatique »**, serait pourvoyeuse d'agression du greffon. En effet, en réponse au traumatisme, de nombreuses modifications neurologiques, hormonales, et moléculaires, seraient à l'origine d'une réponse inflammatoire accrue pouvant altérer le greffon (Mandeep R. Mehra et al. 2004).

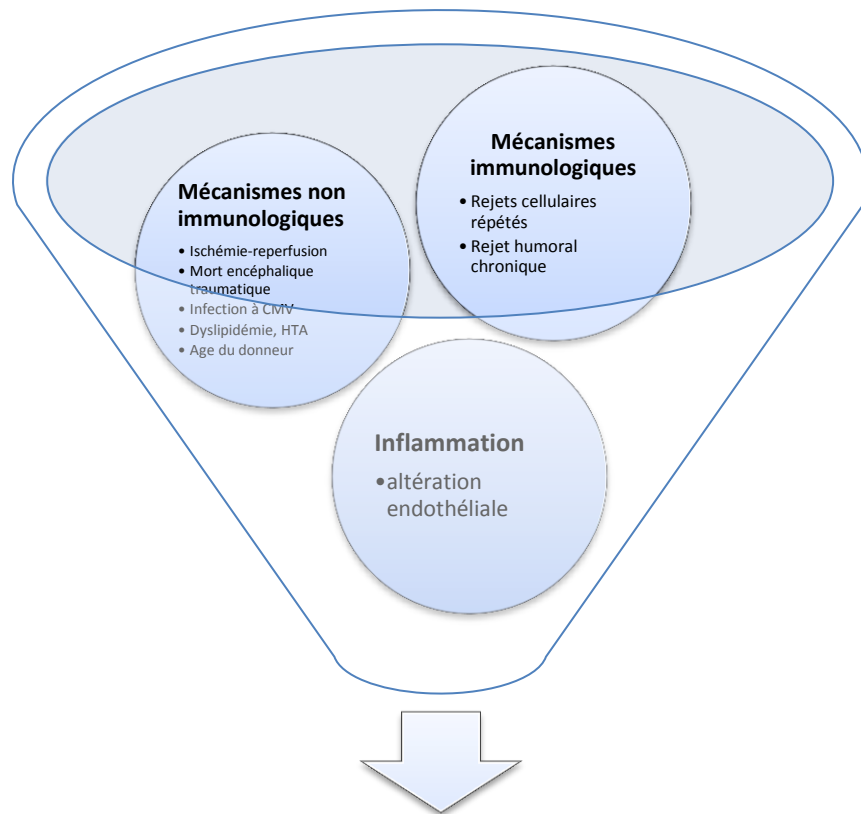
Le phénomène d'ischémie/ réperfusion (lié à la technique et aux conditions de prélèvements, aux conditions et au temps de transport) est responsable d'une réaction inflammatoire également délétère (Vecchiati et al. 2015).

Paramètres du receveur délétères pour la survie du greffon

Le Cytomégalovirus (CMV), en infectant la cellule endothéliale, stimule la prolifération de cellules musculaires lisses vasculaires en favorisant la libération de cytokine et favorise donc le développement de lésions de vasculopathie d'allogreffe (Graham et al. 2009); (Schumacher, Gajarski, et Urschel 2012).

Les facteurs de risques cardiovasculaires classiques (HTA ; dyslipidémie, hyperglycémie, tabagisme, obésité, diabète) présents chez le receveur, favorise le dysfonctionnement endothélial et peuvent donc augmenter l'inflammation vasculaire (Schumacher, Gajarski, et Urschel 2012).

La maladie vasculaire du greffon présente donc une origine multifactorielle. Ses lésions sont le fruit de l'intrication de mécanismes immunitaires (mécanismes de rejets cellulaires et humoraux répétés) à des mécanismes non immunologiques variés favorisant également l'inflammation et l'altération de la cellule endothéliale.



Maladie coronaire du greffon

Figure 12: Facteurs influençant le développement de maladie coronaire du greffon

Diagnostic et prise en charge de la CAV

Tout comme pour le rejet aigu, du fait de l'absence d'innervation du greffon, la maladie vasculaire du greffon à un stade débutant est **asymptomatique**.

L'utilisation de la biopsie endomyocardique (EBM) pour diagnostiquer les lésions de CAV n'est pas adaptée (les lésions myocardiques secondaires à l'ischémie sont non spécifiques et peu visibles: micro-infarctus et vacuolisation des cardiomyocytes) (Stewart et al. 2005). En effet, la maladie vasculaire du greffon intéressant généralement les artères épigardiques, celles-ci ne sont pas échantillonnées sur ce type de biopsie (Lu et al. 2011).

Diagnostic de CAV

De ce fait, **l'angiographie coronaire** demeure la technique de référence pour effectuer ce diagnostic et préciser la topographie des lésions (Costanzo et al. 2010). Elle identifie une infiltration sténosante des coronaires (figure 13) en 4 stades (tableau 5). Des lésions d'athérosclérose peuvent se surajouter. Cet examen présente néanmoins des limites. En opacifiant la lumière vasculaire perméable, elle sous-estime la sévérité de la CAV. En effet, l'évaluation des lésions sténosantes suppose que le segment coronaire d'amont soit sain, ce qui est rarement le cas dans la CAV, les lésions étant diffuses. Cet examen manque donc de sensibilité et de spécificité. Il a souvent été constaté une présence en post mortem de signes histologiques marqués de CAV chez des patients ayant présenté des segments coronaires angiographiquement normaux. D'autres examens ont par conséquent tenté de proposer une alternative au diagnostic (Störk et al. 2006), (Guihaire et al.2014).

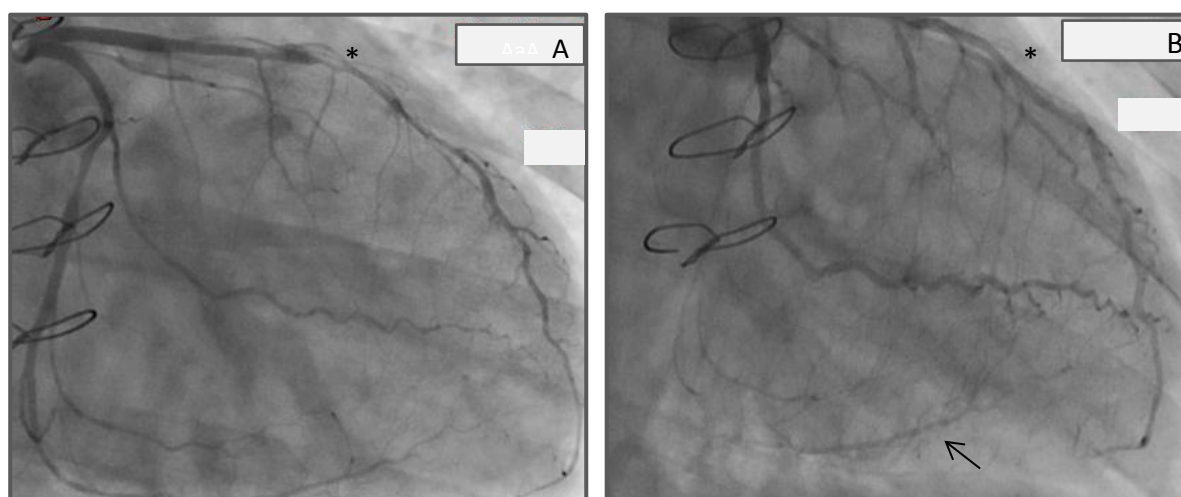
MCG stade 0 (non significative)	Aucune lésion détectable à l'angiocoronarographie
MCG stade 1 (débutante)	Sténose du tronc commun de l'artère coronaire gauche < 50 %, ou une sténose d'un vaisseau primaire* < 70 % ou sténose < 70 % sur tout autre branche en l'absence de dysfonction du greffon**
MCG stade 2 (modérée)	Sténose du tronc commun de l'artère coronaire gauche < 50 %, sténose d'un vaisseau primaire > 70 % ou sténose > 70 % d'une branche dans 2 réseaux en l'absence de dysfonction du greffon
MCG stade 3 (sévère)	Sténose du tronc commun de l'artère coronaire gauche > 50 %, ou au moins 2 sténoses > 70 % de vaisseaux primaires, ou sténoses de branches dans les 3 réseaux, ou MCG stade 1 ou 2 avec dysfonction du greffon, ou évidence d'une physiologie restrictive***

* Vaisseaux primaires: artère interventriculaire antérieure, artère circonflexe, artère coronaire droite ; les 3 réseaux coronaires correspondent à chaque vaisseau primaire associé à ses branches septales et épicardiques.

** Dysfonction du greffon: fraction d'éjection du ventricule gauche < 45 % avec des troubles de la cinétique myocardique.

*** Physiologie restrictive du greffon cardiaque: insuffisance cardiaque symptomatique avec ratio des vitesses E/A > 2, temps de relaxation isovolumétrique < 60 ms, temps de décélération < 150 ms, ou valeurs hémodynamiques restrictives (pression atriale droite > 12 mmHg et pression capillaire bloquée > 25 mm Hg et index cardiaque < 2 l.min⁻¹.m⁻²).

Tableau 5: Classification lésionnelle de la vasculopathie du greffon cardiaque d'après l'International Society for Heart and Lung Transplantation (Costanzo et al. 2010)



Patient de 37 ans présentant une MCG sévère (grade 3) à 5 et 7 ans d'une transplantation cardiaque.

Angiocoronarographie à 5 ans (A). Angiocoronarographie à 7 ans (B). L'IVA présente une infiltration sténosante diffuse sur les deux examens (*). Il apparaît une infiltration sténosante diffuse du réseau marginal à 7 ans (flèche).

Figure 13: Angiocoronarographie d'une maladie coronaire du greffon sévère

L'échographie endocoronaire (IntraVascular UltraSound = IVUS) est un examen plus sensible, plus spécifique mais très coûteux. Il permet, par le biais d'une sonde échographique positionnée en intravasculaire, de visualiser la lumière mais également la paroi du vaisseau. Il recherche un épaississement modéré ou sévère de cette paroi, mais comme l'angiographie coronaire, cet examen reste cependant invasif (Kobashigawa et al. 2005) (M. R. Mehra 2006).

L'échographie de stress à la dobutamine (Dobutamine Stress Echocardiography =DSE), semble présenter une sensibilité et une spécificité correcte (respectivement 80 et 88%) ;(Benatti et Taylor 2014). Cependant la DSE est insuffisamment sensible pour la détection des lésions de CAV débutante (Chirakarnjanakorn et al. 2015).

La scintigraphie myocardique, le TDM (Multi-detector computed tomography = MDCT), l'IRM (Cardiac magnetic resonance = CMR), ont l'avantage d'être des examens non invasifs mais n'ont pour le moment pas montré de supériorité diagnostique comparativement à l'angiographie coronaire.

Prise en charge de la CAV

D'un point de vue thérapeutique, une fois les lésions de CAV établies, la prise en charge est limitée (M. R. Mehra 2006).

Selon The International Society of Heart and Lung Transplantation (Costanzo et al. 2010), **la pose de stents actifs** pourrait être recommandée chez les adultes et les enfants atteints de maladie vasculaire du greffon. Cette prise en charge à court terme ne propose malheureusement qu'une thérapeutique palliative pour des lésions discrètes.

La revascularisation chirurgicale pourrait être une option envisagée chez certains patients présentant des lésions particulières, mais le pronostic reste sombre car ces lésions sont distales et souvent difficiles d'accès à un traitement chirurgical (Agarwal et al. 2014).

La **retransplantation** peut être envisagée chez des patients présentant une CAV sévère. Elle reste le traitement de choix dans les formes sévères. . Les résultats de la retransplantation dans cette indication restent satisfaisants (Costanzo et al. 2010) mais les critères de

sélections doivent être drastiques et de nombreux patients ne sont pas éligibles à cette thérapeutique.

4 - Nécessité de nouveaux marqueurs prédictifs

Du fait d'une présentation clinique le plus souvent silencieuse et d'une thérapeutique limitée, le diagnostic précoce est essentiel (M. R. Mehra 2006).

Il est important de pouvoir dépister les patients les plus à même de développer rapidement des lésions de vasculopathie d'allogreffe et ainsi adapter leur prise en charge et notamment leur surveillance. De plus, pour des patients qui ne présentent aucun signe de développement de CAV, il est intéressant d'utiliser des outils de dépistage non invasifs pouvant permettre d'espacer leur suivi coronarographique non dénué de risque. Malgré son utilité, la réalisation de biopsie endomyocardique est une procédure invasive associée à des complications rares mais potentiellement graves, de l'inconfort pour les patients et un coût non négligeable (Duong Van Huyen et al. 2014).

De nombreux travaux se sont par conséquent intéressés à l'utilité de biomarqueurs sanguins et tissulaire, moins invasif et moins coûteux.

Il a été démontré qu'un **taux de CRP** élevé est associé à une progression des lésions vasculaires chroniques (Benatti et Taylor 2014).

Le ratio TG/HDL (Schmauss et Weis 2008), témoin d'une insulino-résistance (ratio >3) est également associé à une progression des lésions vasculaires chroniques (Seki et Fishbein 2014).

Un taux plasmatique élevé de **BNP (brain natriuretic peptid)** serait associé à un risque élevé de rejet et de vasculopathie d'allogreffe. Ce marqueur n'est cependant aucunement spécifique et peut être augmenté dans le rejet aigu notamment. L'augmentation de **Troponine T** montrerait des résultats similaires (Schmauss et Weis 2008).

Le Facteur de Von Willebrand étant un marqueur d'activation endothéliale, son augmentation serait associée à une progression des lésions (Chamorro et al. 2006).

Les cellules endothéliales apoptotiques circulantes auraient montré dans certaines études expérimentales animales un intérêt pronostique (Singh et al. 2012).

Les facteurs de croissance des cellules endothéliales tels que les taux de VEGF-C, VEGF-A et de platelet factor-4 ont également montré un intérêt dans ce domaine (Daly et al. 2013).

La présence d'**anticorps dirigés contre la myosine et la vimentine** pourrait également permettre de prédire le risque de développer un rejet chronique (Jurcevic et al. 2001).

Des marqueurs tissulaires tels que la recherche d'expression de la chaîne Kca3.1 (Y.-J. Chen et al. 2013) sur les lymphocytes et les cellules musculaires lisses, la décroissance de l'expression de SOCS1 (Qin et al. 2014) dans les cellules endothéliales ont montré également un intérêt prometteur dans le domaine.

Enfin, la découverte des petits ARN non codants appelées **microARN**, régulant l'expression des gènes de développement des cellules immunitaires, semble être une piste intéressante mais n'est pas réalisée en routine en transplantation cardiaque.

Au total, l'ensemble de ces marqueurs n'ont pas fait preuve de leur pertinence dans le dépistage du développement de la CAV. Ces marqueurs sont issus d'études expérimentales animales ou d'études rétrospectives et comportent un certain nombre de limites.

La recherche de DSA dans le sérum du patient greffé et la recherche d'épisodes de rejet cellulaires et humoraux en histologie apparaissent comme des marqueurs prédictifs reconnus de maladie vasculaire du greffon. Ils ne peuvent cependant pas se substituer au diagnostic coronarographique qui demeure l'examen diagnostique de référence, un examen invasif et coûteux.

A l'heure actuelle, l'intérêt ne serait-il pas de stratifier le risque de développement de ce type de lésion en fonction de ces différents marqueurs afin d'adapter au mieux le suivi et la prise en charge des patients en fonction du risque de développement de CAV ?

III - Travail expérimental

1 - Objectif des travaux

Comme nous l'avons vu précédemment la **maladie coronaire du greffon ou vasculopathie cardiaque d'allogreffe**, **Cardiac Allograft vasculopathy (CAV)** est actuellement la principale cause de mortalité en transplantation cardiaque à distance de la greffe (Seki et Fishbein 2014). La réponse allo-immune humorale, médiée par les anticorps anti-HLA spécifique du donneur (DSA), joue un rôle essentiel dans la survenue du rejet humoral (AMR), dans la progression de la **vasculopathie d'allogreffe** et dans la détérioration du greffon (A. Loupy et al. 2015). Cependant, il existe une grande hétérogénéité d'atteintes lésionnelles en lien avec la présence de ces anticorps. Les anticorps anti HLA spécifiques du donneur « *de Novo* » semblent plus pathogènes que les DSA pré-formés (Ho, Vlad, et al. 2011). Enfin, il a été constaté que la présence d'anticorps anti greffon dans le sérum n'est pas toujours corrélée à la survenue d'épisode de rejet aigu, qu'il se traduise par une dysfonction clinique et/ou des modifications histologiques, et n'est pas non plus toujours corrélée au développement de lésions chroniques (Otten et al. 2012).

La **technique Luminex (LMX)** apparue dans les années 2000, a bouleversé la détection des anticorps anti-HLA du fait de son excellente sensibilité et spécificité. Cependant, cette technique comporte un certain nombre de limites, notamment le fait que celle-ci ne détecte pas que des anticorps cliniquement pertinents. (Chin et al. 2011). La technique de lymphocytotoxicité (LCT) permet de détecter des anticorps cytotoxiques mais manque de sensibilité.

L'activation de la fraction C1 du complément, via la reconnaissance de sa sous unité C1q par les immunoglobulines, initie **la voie classique du complément**. La voie classique aboutit à la formation du **complexe d'attaque membranaire**, qui permet la lyse cellulaire, ainsi qu'à la formation de composants favorisant **un environnement inflammatoire**. Le **C1q** est le premier élément jouant un rôle dans cette activation, précédant la fixation du C4d (Yabu et al. 2011).

Un nouveau test C1q Luminex permet d'évaluer la capacité des anticorps anti-HLA détectés par technique LMX à fixer la fraction C1q du complément. Considérant le rôle important que semble jouer la voie du complément dans ces lésions, avec notamment la détection de la fraction C4d pour le diagnostic de rejet humoral, la capacité de certains anticorps à fixer le C1q, pourrait permettre de stratifier les populations à risque de rejet humoral et de développement d'une vasculopathie d'allogreffe.

Dans ce sens, il a été démontré récemment que la présence d'anticorps anti-HLA C1q+ (capable de fixer le complément) détectés dans la première année post transplantation est un facteur prédictif de perte du greffon rénal et ce même à long terme (Loupy et al. 2013).

Enfin, en transplantation cardiaque, il a été démontré que la persistance de DSA fixant la fraction C1q du complément, était associée à un risque plus élevé de rejet humoral détecté en post-transplantation (Zeevi et al. 2013). Aucune étude n'a cependant démontré l'impact de ces anticorps sur la vasculopathie cardiaque d'allogreffe.

L'objectif de cette étude était donc de déterminer si la présence d'anticorps anti-HLA spécifique du donneur, apparus *de Novo*, fixant la fraction C1q du complément constitue un facteur de risque de développement de vasculopathie d'allogreffe en transplantation cardiaque.

2 - Patients et méthodes

Sélection des patients

Notre étude est une étude rétrospective, comparative, non randomisée, monocentrique, menée chez des patients transplantés cardiaques au CHU de Nantes de 1996 à 2012, pour lesquels nous avons identifié la présence **d'anticorps anti-HLA spécifique du donneur apparus de Novo et persistants** lors de leur suivi sérologique en post transplantation (n = 43). Ont été sélectionnés, tous les patients présentant en post transplantation un ou plusieurs DSA *de Novo* identifié en technique Luminex SAB (Single Antigen) ou fortement suspecté en technique Luminex PRA sur au moins deux sérums consécutifs et ayant eu au moins une coronarographie analysable réalisée dans un délai minimum d'un an après l'apparition des DSA, et réalisées selon les recommandations de l'ISHLT dans le cadre du protocole de surveillance du service (Costanzo et al. 2010). Un patient n'ayant présenté de DSA que sur un seul sérum et non sur deux sérums consécutifs a été exclu (n=1). Etaient également exclus tous les patients n'ayant pu faire l'objet d'un suivi coronarographique, ainsi que tous les patients présentant des coronarographies d'interprétations douteuses (lésions avec atteintes modérées, incertaines) (n = 11).

Définition de la vasculopathie d'allogreffe

Dans notre centre, les examens coronarographiques sont effectués 1 an après la transplantation cardiaque, puis tous les 2 ans ou en cas de dysfonction ventriculaire gauche inexpliquée ou de symptomatologie suspecte.

Tous les examens coronarographiques des patients sélectionnés ont été relus rétrospectivement par deux cardiologues spécialisés et ont été répartis en quatre stades (du stade 0 à 4) selon le degré de sténose des coronaires en accord avec la nomenclature diagnostique pour la maladie coronaire du greffon définie par l'ISHLT (Tableau 6). Deux populations distinctes ont été identifiées : une population présentant des lésions vasculopathie cardiaque d'allogreffe porteuse d'un « **statut CAV positif** » (**CAV+**) (n = 16) et une 2^{ème} population dépourvue de lésion porteuse d'un « **statut CAV négatif** » (**CAV-**) (n = 15).

MCG stade 0 (non significative)	Aucune lésion détectable à l'angiocoronarographie
MCG stade 1 (débutante)	Sténose du tronc commun de l'artère coronaire gauche < 50 %, ou une sténose d'un vaisseau primaire* < 70 % ou sténose < 70 % sur tout autre branche en l'absence de dysfonction du greffon**
MCG stade 2 (modérée)	Sténose du tronc commun de l'artère coronaire gauche < 50 %, sténose d'un vaisseau primaire > 70 % ou sténose > 70 % d'une branche dans 2 réseaux en l'absence de dysfonction du greffon
MCG stade 3 (sévère)	Sténose du tronc commun de l'artère coronaire gauche > 50 %, ou au moins 2 sténoses > 70 % de vaisseaux primaires, ou sténoses de branches dans les 3 réseaux, ou MCG stade 1 ou 2 avec dysfonction du greffon, ou évidence d'une physiologie restrictive***

* Vaisseaux primaires: artère interventriculaire antérieure, artère circonflexe, artère coronaire droite ; les 3 réseaux coronaires correspondent à chaque vaisseau primaire associé à ses branches septales et épicardiques.

** Dysfonction du greffon: fraction d'éjection du ventricule gauche < 45 % avec des troubles de la cinétique myocardique.

*** Physiologie restrictive du greffon cardiaque: insuffisance cardiaque symptomatique avec ratio des vitesses E/A > 2, temps de relaxation isovolumétrique < 60 ms, temps de décélération < 150 ms, ou valeurs hémodynamiques restrictives (pression atriale droite > 12 mmHg et pression capillaire bloquée > 25 mm Hg et index cardiaque < 2 l.min⁻¹.m⁻²).

Tableau 6: Classification lésionnelle de la vasculopathie du greffon cardiaque d'après l'International Society for Heart and Lung Transplantation (Costanzo et al. 2010).

Relecture des biopsies endomyocardiques de suivi

Dans notre centre, les biopsies endomyocardiques de surveillance sont réalisées très fréquemment la première année post transplantation (une fois par semaine le premier mois, tous les mois jusqu'à 4 mois puis à 6 mois, à 9 mois et à 1 an), puis tous les ans (jusqu'à 5 ans), et sont également réalisées en cas de suspicion clinique de rejet. Ce protocole est cependant modulable en fonction des données clinico biologiques du patient.

Toutes les biopsies endomyocardiques des patients inclus ont été relues rétrospectivement après fixation en formol, inclusion en paraffine et coloration en HES (Hématoxyline-Eosine-Safran). Ces biopsies ont été évaluées par un pathologiste expérimenté en pathologie cardiaque selon les recommandations établies par la société internationale de transplantation cardiaque et pulmonaire (ISHLT) (Berry et al. 2011). Les caractéristiques du rejet cellulaire et humoral ont été définies selon des critères pathologiques et immunohistopathologiques de l'ISHLT.

Le diagnostic de rejet humoral sur une biopsie était défini par la présence d’au moins un des critères suivants : la présence en coloration standard d’une activation des cellules endothéliales (turgescence), et l'accumulation de cellules mononuclées intravasculaires était qualifiée de **pAMR1 (H+)**. La présence en immunohistochimie, d’une positivité de l’anticorps anti c4d : marquage linéaire circonférentiel, diffus, de plus de 50% des capillaires et /ou d’un immunomarquage des macrophages dans les lumières des capillaires par l’anticorps anti CD68 (marquage positif dans >10% des capillaires était qualifié **de pAMR1 (i+)**). En cas de signes histologiques et immunohistochimiques associés, le rejet humoral était qualifié **de pAMR2**. Enfin, s’il existait des signes de gravité associés (hémorragie interstitielle, œdème, microthrombose, lésions myocytaires) le rejet était alors qualifié **de pAMR3** (Tableau 7).

pAMR0	Absence de rejet
pAMR1	Suspicion de rejet : critères histologiques (H+) ou critères immunohistochimiques (i+) de rejets.
pAMR2	Rejet avéré, critères histologiques et immunohistochimiques positifs
pAMR3	Rejet grave, critères histologiques et immunohistochimiques positifs avec signes de gravité associés (hémorragie interstitielle, œdème, microthromboses, lésions myocytaires)

Tableau 7: Classification histologique du rejet humoral

Le diagnostic de rejet cellulaire était défini par la présence d’un infiltrat inflammatoire de localisation périvasculaire et/ou interstitiel (entre les cardiomyocytes) : **1R** associé ou non à la présence de plusieurs foyers de nécrose cardiomyocytaire : **2R** et à des signes de gravité (infiltrat diffus avec plusieurs foyers de lésions myocytaires +/- œdème +/- suffusions hémorragiques +/- vascularite) : **3R** (Tableau 8).

Classification ISHLT 2004			Classification ISHLT 1990		Classification de Billingham 1982	
0R	Pas de rejet	0	Pas de rejet	Pas de rejet	Pas d'infiltrat	
	1R Rejet léger, infiltrat périvasculaire +/- interstitiel +/- au maximum un foyer unique de lésion myocytaire	1A	Infiltrat focal, périvasculaire, +/- interstitiel, sans lésion myocytaire	Rejet aigu léger	Infiltrat cellulaire périvasculaire	
1B		Infiltrat diffus, périvasculaire, +/- interstitiel, sans lésion myocytaire				
2		Un foyer d'infiltrat unique avec lésion myocytaire				
2R	Rejet modéré, 2 ou plus foyers avec lésion myocytaire	3A	Plusieurs foyers d'infiltrat avec lésion myocytaire	Rejet aigu modéré	Infiltrat diffusant entre les myocytes	
	3R Rejet sévère, infiltrat diffus avec plusieurs foyers de lésions myocytaires +/- œdème +/- suffusions hémorragiques +/- vasculite	3B	Infiltrat diffus avec lésion myocytaires			
4		Infiltrat diffus polymorphe avec lésions myocytaires étendues, +/- œdème +/-suffusions hémorragiques +/- vasculite	Rejet aigu sévère	Nécrose myocytaire, infiltrat hémorragique +/- polynucléaires		
Indication de traitement : à partir du grade 1B ou 2 (1990), 2R (2004) : bolus de SOLUMEDROL 2.5 à 10 mg/kg/jour pendant 3 à 5 jours. Contrôle de la BEM à 7 jours.						

Tableau 8: Classification histologique du rejet cellulaire

D'autres critères histologiques ont enfin été évalués, avec notamment, la présence de neutrophiles dans les capillaires, d'un œdème interstitiel, d'un effet quilty, de fibrose, ou de lésions cicatricielles.

Etait considéré comme patient porteur d'un « **statut AMR positif** », tout patient ayant présenté **au moins un évènement de rejet humoral au cours de son suivi**. Les patients n'ayant jamais présenté de rejet humoral étaient porteurs d'un « **statut AMR négatif** ».

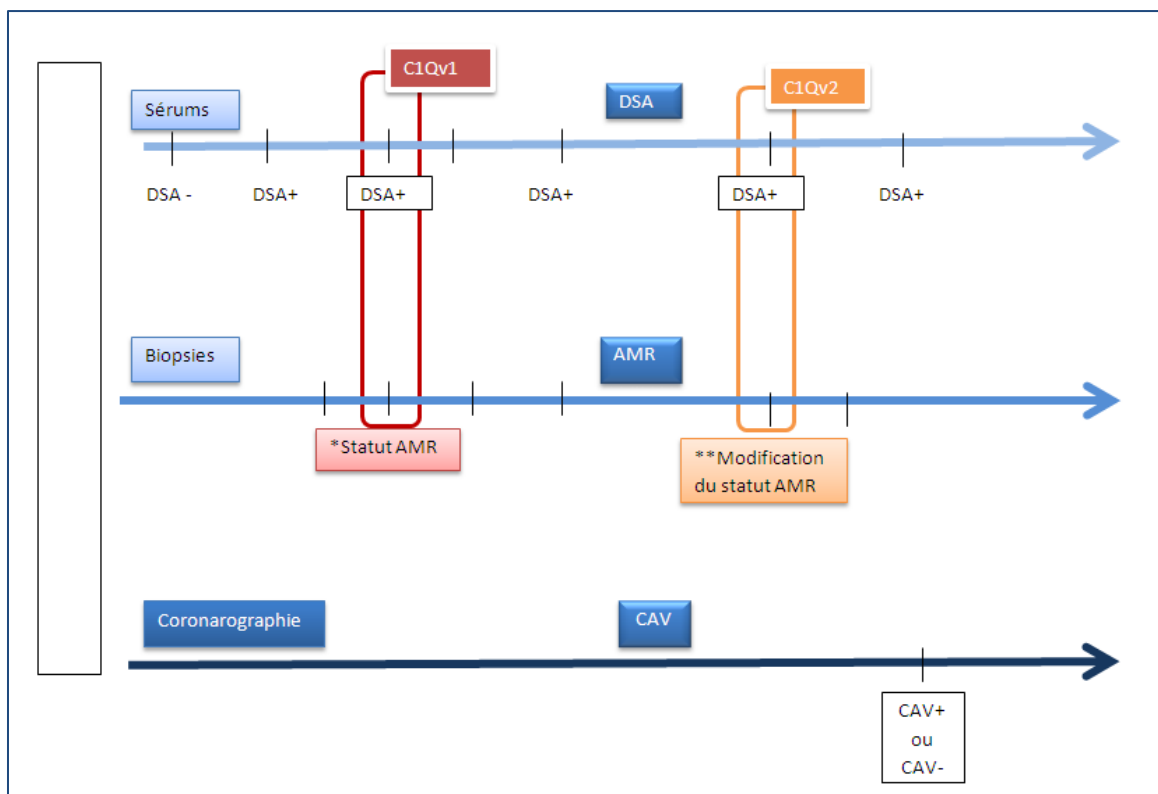
Etait considéré comme patient porteur d'un « **statut ACR positif majeur** », tout patient ayant présenté au moins un évènement de rejet cellulaire majeur (classé au moins 2R) au cours de son suivi. Les patients n'ayant jamais présenté de rejet cellulaire ou un rejet classé 1R étaient porteurs d'un « **statut ACR négatif ou faible** ».

Mise en évidence des anticorps anti-HLA spécifiques du donneur de type IgG

Dans notre centre, les sérums des patients sont prélevés après transplantation tous les 1^{er}, 3^e, 6^e et 12^e mois en systématique puis 1 fois par an.

Tous les sérums des patients sélectionnés rétrospectivement avaient été étudiés soit par technique Elisa pour les sérums les plus anciens, soit par technique Luminex PRA ou SAB.

Etait sélectionné **le premier sérum sur lequel était apparu un DSA concomitant à la réalisation d'une biopsie (C1qv1)**. Un sérum était considéré comme concomitant à une biopsie s'il avait été prélevé le même jour que celle-ci. Si le statut AMR était négatif (pAMR0) sur la première biopsie concomitante au premier sérum et qu'il demeurait inchangé au cours du suivi, un seul sérum était testé (C1Qv1). En cas de modification de l'activité humorale durant le suivi, à savoir une négativation du statut (première biopsie pAMR+ puis seconde biopsie pAMR-) ou une positivation de celui-ci (1ere biopsie pAMR- puis seconde biopsie pAMR+) un 2^e sérum était sélectionné (C1qv2), (Figure 14).



Pour chaque patient sélectionné, après relecture histologique de ses biopsies,

*Si le statut AMR était négatif (pAMR0) sur la première biopsie concomitante au premier sérum et qu'il demeurerait inchangé au cours du suivi, un seul sérum était sélectionné (**C1Qv1**).

** Si le statut AMR se modifiait au cours du suivi, un second sérum concomitant à la biopsie d'intérêt était sélectionné (**C1Qv2**) en plus du premier sérum (**C1qV1**).

Statut AMR- (pAMR0) inchangé : 1 seul sérum sélectionné.

Statut AMR+ (pAMR1, 2 ou 3) puis statut AMR- (pAMR0): 2 sérums sélectionnés.

Statut AMR- puis statut AMR+ : 2 sérums sélectionnés.

Figure 14: Protocole de sélection des sérums

Lorsqu'un sérum sélectionné pour l'analyse n'avait pas déjà été testé en technique Luminex SAB (Single Bead antigen), celui-ci était décongelé et testé en technique Luminex SAB.

L'objectif de la technique Luminex SAB était de **détecter tous les anticorps anti HLA de type IgG (de spécificités A, B, C, DR et DQ, DQ) présents dans le sérum, indépendamment de leur capacité de fixation au complément**. Ce test a utilisé des billes porteuses d'un type d'antigène recombinant HLA de classe I ou de classe II connu. Le sérum du patient a été incubé avec les billes à température ambiante dans l'obscurité pendant 30 minutes, lavées deux fois, puis incubées avec un révélateur anti IgG humaine couplé à la phycoérythrine toujours dans l'obscurité sous agitation douce pendant 30 minutes, lavées trois fois, et analysées sur plate-forme Luminex. Les données ont été analysées par logiciel Fusion (One Lambda Inc), et les interprétations ont été faites en utilisant la moyenne d'intensité de fluorescence (MFI) de chaque anticorps anti HLA. Les réactions étaient signalées comme **positives** pour un antigène HLA lorsque les **MFI étaient supérieures à 1000 (seuil de positivité)**. Lorsque plusieurs anticorps étaient présents dans un sérum sélectionné, la somme des MFI des différents anticorps était alors calculée, et qualifiée de **MFI-IgG somme** pour le sérum d'intérêt.

Mise en évidence des DSA fixant la fraction C1q du complément

Dans un second temps, les sérums sélectionnés ont été testés avec la technique de fixation du C1q.

L'objectif de cette technique était de **repérer les sous-ensembles d'anticorps anti HLA IgG capable de lier le C1q et donc d'activer la voie classique du complément**. Les sérums sélectionnés ont été décomplémentés à 56°C pendant 30 minutes. Du C1q purifié a été dilué dans l'objectif d'uniformiser et d'obtenir des concentrations identiques dans tous les échantillons. 5µl de sérum ont été incubés avec 5µl de solution de C1q et 5 µl de billes SAB LABScreen de classe I et II pendant 20 minutes à température ambiante. Puis 5µl d'anti C1q couplé à la phycoérythrine ont été ajoutés. Après 20 minutes supplémentaires d'incubation à température ambiante, les billes ont été lavées deux fois et l'acquisition a été réalisée à l'aide d'un appareil Luminex.

Les données ont été analysées grâce au logiciel Fusion de la même manière que pour la détection des IgG antiHLA. Les interprétations ont été faites en utilisant la moyenne

d'intensité de fluorescence (MFI). Les réactions étaient signalées comme **positives** pour un antigène HLA lorsque les **MFI étaient supérieures à 500**. Lorsque plusieurs DSA étaient présents dans un sérum, la somme des MFI des différents DSA était alors calculée, et qualifiée de **MFIC1q somme**.

Analyses Statistiques et bioéthique

Les analyses statistiques ont été réalisées indépendamment par la plateforme de biométrie de la maison de la recherche en Santé du CHU de Nantes après anonymisation des données et après signature du consentement des patients inclus (Annexe 3) en conformité avec la loi Huriet, les lois bioéthiques, la loi informatique et liberté, ainsi qu'en accord avec les Bonnes Pratiques Cliniques et avec la déclaration d'Helsinki. Les tests du Khi2 et de Fisher ont été réalisés afin de déterminer les associations entre les variables qualitatives (selon les effectifs), les coefficients de corrélation (spearman) ont été utilisés pour déterminer les associations entre les variables quantitatives.

3 - Résultats

Données démographiques

Cette étude a inclus **31 patients greffés cardiaques du CHU de Nantes présentant des DSA de Novo** dépistés via la base de données du service HLA de l'Etablissement Français du Sang. Parmi ces patients, deux populations distinctes ont été identifiées selon la présence ou l'absence de signes coronarographiques de CAV : **15 patients** ne présentaient pas de lésion de CAV à la coronarographie et ont été classés « **statut CAV négatif** » et **16 patients** présentaient des lésions coronarographiques et ont été classés « **statut CAV positif** ».

Les données démographiques et cliniques des patients sont répertoriées dans le Tableau 9.

La moyenne d'âge des receveurs était de 36.9ans (Pas de différence significative entre les populations CAV+ et CAV- : 36.5 et 37.4 ans).

La majorité des patients étaient des **hommes** (n= 21), (68%). Il y a **plus d'homme** dans la population CAV + (n= 13) que dans la population CAV- (n =8).

Les **retransplantations** n'étaient observées que dans le groupe CAV+.

Pendant la période de suivi, au total, 7 patients (22%) sont **décédés**. 6 patients parmi les 7 appartenaient au groupe CAV+.

Le délai moyen post greffe d'apparition des DSA était plus court dans la population CAV+ (4.4 ans) que dans la population CAV- (5.4 années).

La majorité des patients (n=30) présentait au moins un **DSA de classe II** (97%). Un seul patient était porteur d'un DSA de classe I isolé (3%). 21 patients étaient porteurs de DSA de classe II uniquement. 9 Patients présentaient des DSA de classe I et II. (Pas de différence significative entre les populations CAV+ et CAV-).

27 patients étaient porteurs d'au moins un DSA anti DQ (87%) (Pas de différence significative entre les populations CAV+ (n =12) et CAV- (n=15)).

Les patients sélectionnés dans notre étude présentaient en moyenne **5.5 mismatches** HLA avec leur donneur, en considérant les loci A, B, DR, DQ, au moment de la transplantation (Pas de différence significative entre les populations CAV+ et CAV-).

Caractéristiques		Cav - n = 15 (%)	Cav + n= 16 (%)	Total n = 31 (%)
Sexe	Homme	8 (53.3%)	13 (81.3%)	21 (67.7%)
	Femme	7 (46.7%)	3 (18.8%)	10 (32.3%)
Age de la greffe	Min-Max	[14.7;64.0]	[11.9;63.4]	[11.9;64.0]
	Moyenne +/- Ecart-type	37.4+/-14.4	36.5+/-18.0	36.9+/-16.1
	Médiane [Q1- Q3]	35.9[27.3;44.2]	35.1[18.2;53.4]	35.9[22.2;47.4]
Etat actuel	Décédé	1 (6.7%)	6 (37.5%)	7 (22.6%)
	Vivant	14 (93.3%)	10 (62.5%)	24 (77.4%)
Regreffé	Oui	0 (0.00%)	4 (25.0%)	4 (12.9%)
	Non	15 (100.0%)	12 (75.0%)	27 (87.1%)
Délai d'apparition des DSA	Min-Max	[0.0;19.0]	[0.8;10.2]	[0.0;19.0]
	Moyenne +/- Ecart-type	5.4+/-5.9	4.4+/-2.5	4.9+/-4.4
	Médiane [Q1- Q3]	4.9[0.4;8.8]	4.4[2.6;5.8]	4.8[1.0;6.5]
Classe de DSA anti HLA	I	1 (6.7%)	0 (0.00%)	1 (3.2%)
	II	10 (66.7%)	11 (68.8%)	21 (67.7%)
	I et II	4 (26.7%)	5 (31.3%)	9 (29.0%)
Spécificités A	0	11 (73.3%)	14 (87.5%)	25 (80.6%)
	1	3 (20.0%)	2 (12.5%)	5 (16.1%)
	2	1 (6.7%)	0 (0.00%)	1 (3.2%)
Spécificités B	0	12 (80.0%)	11 (68.8%)	23 (74.2%)
	1	1 (6.7%)	5 (31.3%)	6 (19.4%)
	2	2 (13.3%)	0 (0.00%)	2 (6.5%)
Spécificités C	0	15 (100.0%)	16 (100.0%)	31 (100.0%)
Spécificités DQ	0	3 (20.0%)	1 (6.3%)	4 (12.9%)
	1	7 (46.7%)	11 (68.8%)	18 (58.1%)
	2	5 (33.3%)	4 (25.0%)	9 (29.0%)
Spécificités DR	0	9 (60.0%)	7 (43.8%)	16 (51.6%)
	1	3 (20.0%)	3 (18.8%)	6 (19.4%)
	2	3 (20.0%)	6 (37.5%)	9 (29.0%)
Nombre de mismatches	Min-Max	[4.0;8.0]	[3.0;7.0]	[3.0;8.0]
	Moyenne +/- Ecart-type	5.7+/-1.3	5.4+/-1.3	5.5+/-1.3
	Médiane [Q1- Q3]	6.0[5.0;7.0]	6.0[4.0;6.0]	6.0[4.0;7.0]

Tableau 9: Caractéristiques démographiques, cliniques et immunologiques de la population

Données de la relecture des biopsies endomyocardiques de suivi et statut histologique des patients.

Un total de **564** biopsies endomyocardiques ont été relues (tableau 10) : 270 (48%) ne présentaient aucune anomalie (ISHLT grade 0R et pAMR0). **273** (48 %) présentaient des signes de **rejet cellulaire** (259 BEM (46%) avec un grade 1R et 14 BEM (5%) avec un grade 2R), tandis que **33** BEM (6%) présentaient des signes de **rejet humoral** (pAMR1 (h+) sur 13 BEM, pAMR1 (i+) sur 1 BEM, pAMR2 sur 17 BEM et pAMR3 sur 2 BEM). Parmi ces biopsies, **1** BEM présentait des lésions de **rejet mixte** classées 2R3A et pAMR2. **103** BEM (18%) présentaient un **effet quilty** dont 33 (6%) un effet quilty marqué. Le nombre de biopsies présentant un **rejet cellulaire majeur classé 2R** était **plus élevé dans le groupe CAV +** (12) que dans le groupe CAV- (2). Le nombre de biopsies présentant un **rejet humoral** était **plus élevé dans le groupe CAV+** (21) que dans le groupe CAV- (12) ; cette différence était encore plus marquée pour l'analyse des rejets pAMR2 avec 13 biopsies classées pAMR2 dans le groupe CAV+ et 4 dans le groupe CAV-.

	CAV+ (%)	CAV- (%)	Total
Patients testés	16 (51,6%)	15 (48,4%)	31
Biopsies analysées	299 (53%)	265 (47%)	564
Nombre moyen de biopsies par patient	18,7	17,7	18,2
Biopsies sans anomalie histologique (pAMR0 et 0R)	139 (51%)	131 (49%)	270
Rejet cellulaire (ACR+)	143 (52%)	130 (48%)	273
1R	131 (51%)	128 (49%)	259
2R	12 (86%)	2 (14%)	14
Rejet humoral (pAMR+)	21 (64%)	12 (36%)	33
pAMR1 (H+)	6 (46%)	7 (54%)	13
pAMR1 (i+)	1 (100%)	0	1
pAMR2	13 (76%)	4 (23%)	17
pAMR3	1 (50%)	1 (50%)	2
Rejet mixte	1 (100%)	0	1
Effet quilty	36 (35%)	67 (65%)	103
Effet quilty marqué	13 (40%)	20 (60%)	33

Tableau 10: Données histologiques de la population

Statuts histologiques des patients

Deux populations ont été identifiées selon la présence ou l'absence de signes de rejet humoraux durant leur suivi : **14** patients n'ont jamais présenté de signes histologiques de rejet humoraux durant leur suivi et ont été classés « **statut AMR négatif** » et **17** patients ont été considérés comme porteurs d'un « **statut AMR positifs** » ayant présenté au moins un épisode de rejet humoral. **Il n'a pas été observé d'association significative entre le statut AMR et le statut CAV ($p = 0.37$).**

En revanche, il semble que **le nombre de patients ayant présenté des épisodes multiples de rejet humoraux (> à 2 épisodes) soit plus élevé au sein du groupe CAV+ (tableau 11) : 6 patients sur 16 (38%) comparativement au groupe CAV – (un seul patient présentait plusieurs épisodes de rejet humoral 1 patient sur 15 (6%) ($p=0.08$).**

	Nb AMR	CAV- (n = 15)	CAV+ (n = 16)
Absence d'épisode ou épisode unique	0	8	6
	1	6	4
Episodes multiples	2	0	3
	3	0	2
	4	0	0
	5	1	1

Nb AMR : nombre d'épisode d'AMR.

6 patients sur 16 (38%) présentent des épisodes multiples d'AMR dans le groupe CAV+, 1 patient sur 15 (6%) présente des épisodes multiples d'AMR dans le groupe CAV- ($p = 0,0829$).

Tableau 11: Récurrence des épisodes de rejet humoral de la population

Deux populations ont été identifiées selon la présence ou l'absence de signes de rejet cellulaires : **24** patients présentaient un « **statut ACR négatif** », n'ayant pas présenté d'épisode de rejet cellulaire majeur durant leur suivi (0R et/ou 1R) et **7** patients avaient un « **statut ACR positif majeur** » ayant présenté au moins un épisode de rejet cellulaire classé 2R. Parmi les 7 patients ayant un statut ACR positif, 6 sont CAV+, **Il existe donc possiblement une association entre le statut ACR majeur et le statut CAV (tableau 12) non démontrée cependant statistiquement (p= 0.08).**

		CAV - N=15	CAV + N=16	pvalue
Statut ACR Majeur	Négatif	14 (93.3%)	10 (62.5%)	0.0829
	Positif	1 (6.7%)	6 (37.5%)	

Tableau 12: Association entre le statut ACR Majeur et statut CAV

Anticorps IgG anti-HLA donneurs spécifiques circulants

Conformément au protocole, nous avons sélectionné **41 sérums** chez les 31 patients sélectionnés. 10 patients ont bénéficié d'un test en technique Luminex SAB sur 2 de leurs sérums car ils présentaient des sérums concomitants à une biopsie dont le statut AMR était différent.

Le nombre moyen de DSA dans un sérum sélectionné étaient de 2,5. (Pas de différence significative entre les populations CAV+ et CAV-). **100 DSA** ont donc été détectés par technique Luminex SAB. La MFI moyenne d'un DSA était de 8336 pour le groupe CAV+ et de 5612 pour le groupe CAV- (tableau 13).

		CAV +(%)	CAV-(%)
Patients testés (n=31)		16 (51,6%)	15 (48,4%)
Tests LMX HD (n=41)		22 (53,7%)	19 (46,3%)
Nombre moyen de DSA par test		2,55	2,47
Nombre total de DSA testés (n=100)		54 (54%)	43 (43%)
MFI IgG moyenne d'un DSA	Min-Max	[34;20555]	[130;21123]
	Moyenne +/- Ecart-type	8336 +/- 6109	5612 +/- 5593
	Médiane [Q1-Q3]	7641 [3964;13383]	3256 [1724;7662]
Somme MFI IgG	Min-Max	[4875.0;46530.0]	[2287.0;40506.0]
	Moyenne +/- Ecart-type	23265.0 +/- 14927.6	13624.8 +/- 11681.8
	Médiane [Q1-Q3]	19510.5 [10127.0; 37986.0]	10973.0 [5469.0;17417.0]

Test LMX IgG : Test réalisé en technique luminex SAB (Single bead antigen) pour la détection de DSA. (Ce test regroupe la détection des classe I et II du sérum même si en pratique ceux-ci sont réalisés indépendamment).

Somme de MFI DSA IgG : Somme des MFI de DSA testés dans un sérum en technique Luminex SAB.

Tableau 13: Données de la technique Luminex IgG-SA en fonction du statut CAV

La moyenne des sommes des MFI IgG d'un test était de 13625 pour le groupe CAV- et de 23265 pour le groupe CAV+. La médiane des sommes de 10973 pour le groupe CAV- et de 19510 pour le groupe CAV+ (p=0.08). En effectuant une analyse en sous-groupe (Tableau 15), nous observons chez les patients n'ayant jamais présenté de rejet humoral (AMR-) que la médiane des sommes de MFI IgG est inférieure dans le groupe CAV- (6431) à la médiane des sommes du groupe CAV+ (21349) (p=0.067).

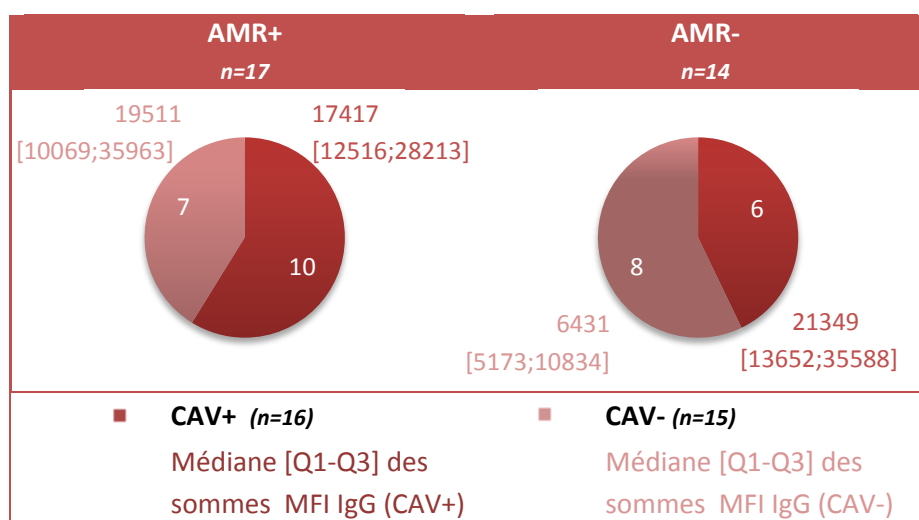


Figure 15: Analyse en sous-groupe des médianes de MFI IgG selon le statut AMR

Anticorps anti-HLA spécifique du donneur fixant la fraction C1q du complément

Les 41 sérums testés en technique C1q comportant 100 anticorps anti-greffe détectés par technique luminex standard, avec en moyenne 2,5 DSA par sérum ont été testés en technique C1q.

Nous avons observé la **positivité de 54 DSA** anti greffe (54%). **31 tests** C1q se sont avérés **positifs**. La moyenne des MFI d'un test positif était de 10296, celle d'un test négatif de 115.

Les patients étaient porteurs d'un « statut C1q positif » s'ils présentaient au moins un test C1q positif. **23** patients ont donc été classés « **statut C1q positif** », **7** patients « **statut C1q négatif** » (tableau 14).

Parmi les 10 patients chez qui deux sérums étaient testés, 8 ont conservé le même statut C1q entre les deux tests. Deux patients ont présenté un changement de leur statut C1q entre leurs deux prélèvements. Le patient 25, qui présentait un statut C1q négatif concomitant à une biopsie qui ne présentait pas de signe de rejet humoral est devenu C1q positif lors d'un événement de rejet humoral. Le patient 8 qui présentait un statut C1q positif concomitant à une biopsie sans signe de rejet humoral est devenu C1q négatif au moment d'un épisode de rejet humoral (tableau 15).

		C1q + (%)	C1q- (%)	Ni (%)
Patients testés (n= 31)		23 (74%)	7 (23%)	1 (3%)
Tests C1q (n=41)		31 (76%)	9 (21%)	1 (3%)
Nombre moyen de DSA par test		2,65	1,87	ni
Somme de MFIC1q	Min-Max	[110;92802]	[0;958]	ni
	Moyenne +/- Ecart-type	27235 +/- 19900	217 +/- 333	ni
	Médiane [Q1-Q3]	28205 [12687;29905]	45 [0;213]	ni
Nombre total de DSA testés (n=100)		54 (54%)	43 (43%)	3 (3%)
MFIC1q moyenne d'un DSA	Min-Max	[0;31333]	[0;707]	ni
	Moyenne +/- Ecart-type	10296 +/- 12026	115 +/- 211	ni
	Médiane [Q1-Q3]	2478 [144-21933]	0 [0;173]	ni

Test C1q : Test réalisé en technique luminex C1q pour la détection de DSA fixant le complément (Ce test regroupe la détection des classe I et II du sérum même si en pratique ceux-ci sont réalisés indépendamment).

Somme de MFIC1q: Somme des MFI en test C1q de DSA testés dans un sérum.

Tableau 14: Données de la technique C1q en fonction du statut C1q

PATIENT	pAMRv1	AMRv1C	AMRv1t	C1Qv1	Somme C1qv1	pAMRv2	AMRv2C	AMRv2t	C1Qv2	Somme C1qv2
1	AMR1 (i+)	oui	oui	pos	60762	AMR0	-	-	pos	4509
6	AMR0	-	-	pos	28380	AMR2	oui	oui	pos	27686
8	AMR0	-	-	pos	15846	AMR2	non	non	neg	958
11	AMR3	oui	oui	pos	28611	AMR0	-	-	pos	28708
12	AMR0	-	-	pos	28205	AMR2	oui	oui	pos	29827
16	AMR2	oui	oui	pos	35430	AMR0	-	-	pos	29139
17	AMR0	-	-	pos	26304	AMR1 (h+)	non	non	pos	21524
23	AMR0	-	-	pos	9044	AMR1 (h+)	non	non	pos	29915
25	AMR0	-	-	neg	173	AMR2	oui	oui	pos	28868
29	AMR0	-	-	pos	23333	AMR2	non	oui	pos	9527

pAMRv1/v2 : Statut de la biopsie concomitante au 1^{er} sérum testé/2ème sérum testé avec AMR0 : absence de rejet humoral, AMR1(i+) : signe immunohistochimique de rejet humoral, AMR1(h+) signe histologique de rejet humoral, AMR2 : signe histologique et immunohistochimique de rejet humoral, AMR3 : signes histologiques et immunohistochimiques de rejet humoral avec signes histologiques de gravité.

AMRv1C/v2 : Signe clinique de rejet humoral au moment de la biopsie.

AMRv1/v2 t : Rejet humoral traité après diagnostic histologique

C1Qv1/v2 : Statut C1q du 1^{er} sérum testé/ 2ème sérum testé, pos : positif (au moins un DSA présentant une MFI >500),

neg : négatif (DSA présentant une MFI<500)

SommeC1Qv1/v2 : Somme des MFI en test C1q des DSA testés dans le sérum.

Tableau 15: Evolution de la capacité de fixation du C1q en fonction de la survenue ou non d'un épisode d'AMR

Association entre le statut AMR et le statut C1q

Parmi les 17 patients présentant un statut AMR +, 15 patients présentaient un statut C1q+ (88%), 2 un statut C1q- (12%). Parmi les 14 patients présentant un statut AMR-, 8 patients présentaient un statut C1q+ (62%), 5 un statut C1q-(38%), un patient présentait une valeur non interprétable (tableau 16). Nous n'observons pas d'association entre le statut AMR et le statut C1q des patients ($p = 0.19$).

En revanche, il semble que les patients présentant une somme de MFI C1q élevée soit plus à risque de développer des lésions de rejet humoral (Médiane de 1765 chez les patients AMR- versus médiane de 26304 chez les patients AMR+)($p = 0.06$).

	AMR- (n = 14)	AMR+ (n = 17)	Valeur p
STATUT C1q			
C1q – (n = 7)	5 (38.5%)	2 (11.8%)	0.19
C1q + (n=23)	8 (61.5%)	15 (88.2%)	
<i>Données manquantes</i>	1	0	
Somme MFIC1Qv1			
Min-Max	[0.0;38240.0]	[0.0;92802.0]	0.06
Moyenne	10862.4	28441.6	
+/- Ecart-type	+/-14443.8	+/-26371.3	
Médiane	1765.0	26304.0	
[Q1-Q3]	[0.0;25213.0]	[8408.0;35430.0]	

Tableau 16: Association entre les statuts C1q et le statut AMR

Association entre le statut C1q, les sommes de MFIC1q et le statut CAV (Tableau 17)

Parmi les 23 patients classés « statut C1q positif », 14 présentaient des lésions de CAV. Parmi les 7 patients classés « statut C1q négatif », 6 ne présentaient pas de lésions de CAV. Les patients présentant un « statut C1q positif » auraient donc plus tendance à développer des lésions de CAV que ceux présentant un « statut négatif » ($p=0,08$). De plus, le pourcentage de patients présentant un « statut C1q positif » était plus élevé dans le groupe CAV+ (14/15 : 93%) que dans le groupe CAV- (9/15 : 60%), un patient CAV + avait des résultats non interprétable en C1q. Enfin, la moyenne et la médiane des sommes de MFIC1q des patients CAV- sont statistiquement significativement inférieures à la moyenne et la médiane des sommes de MFIC1q des patients CAV+, avec des moyennes de 11997 versus 28476 et des médianes de 5964 versus 28292 ($p=0.05$).

	CAV – (n = 15)	CAV + (n= 16)	Valeur p
STATUT C1q			
C1q – (n = 7)	6 40.0%)	1 (6.7%)	0.0801
C1q + (n=23)	9 (60.0%)	14 (93.3%)	
<i>Données manquantes</i>	0	1	
Somme MFIC1Qv1			
Min-Max	[0.0;59776.0]	[0.0;92802.0]	0.0503
Moyenne	11997.1	28476.5	
+/- Ecart-type	+/-16815.2	+/-26013.8	
Médiane	5964.0	28292.5	
[Q1-Q3]	[0.0;23333.0]	[4290.5;36835]	

Tableau 17: Association entre les statuts C1q et le statut CAV

Corrélation entre la MFI des DSA en technique IgG et la MFI en technique C1q

La corrélation entre les valeurs de MFI obtenues en technique IgG standard et les valeurs de MFI obtenues dans le test C1q est assez bonne. Nous obtenons encore un meilleur coefficient de corrélation entre la somme des valeurs de MFI de tous les DSA et la somme des valeurs obtenues avec les tests C1q respectifs (Figure 16).

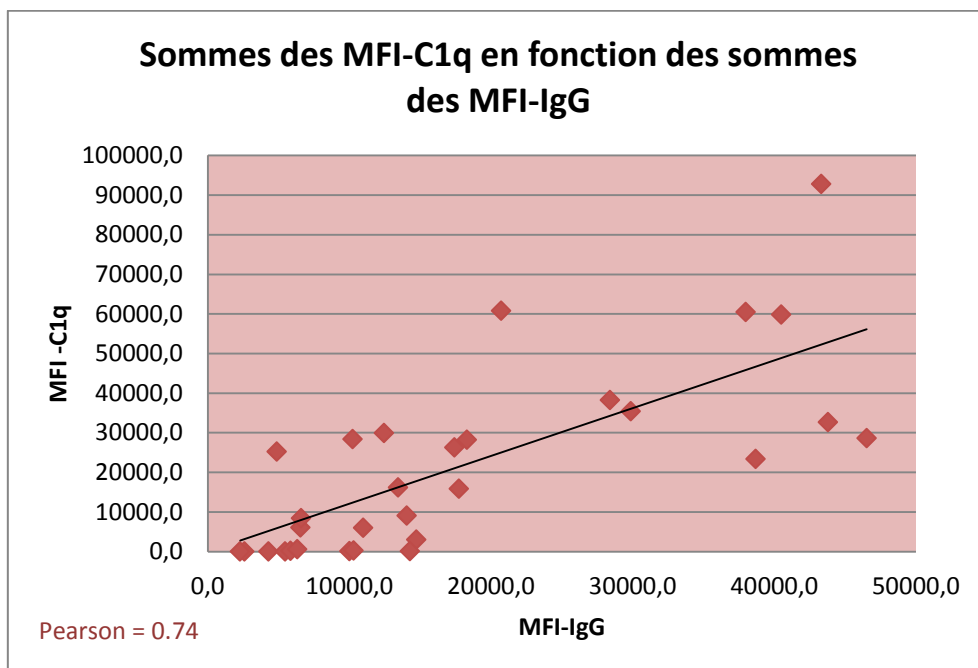
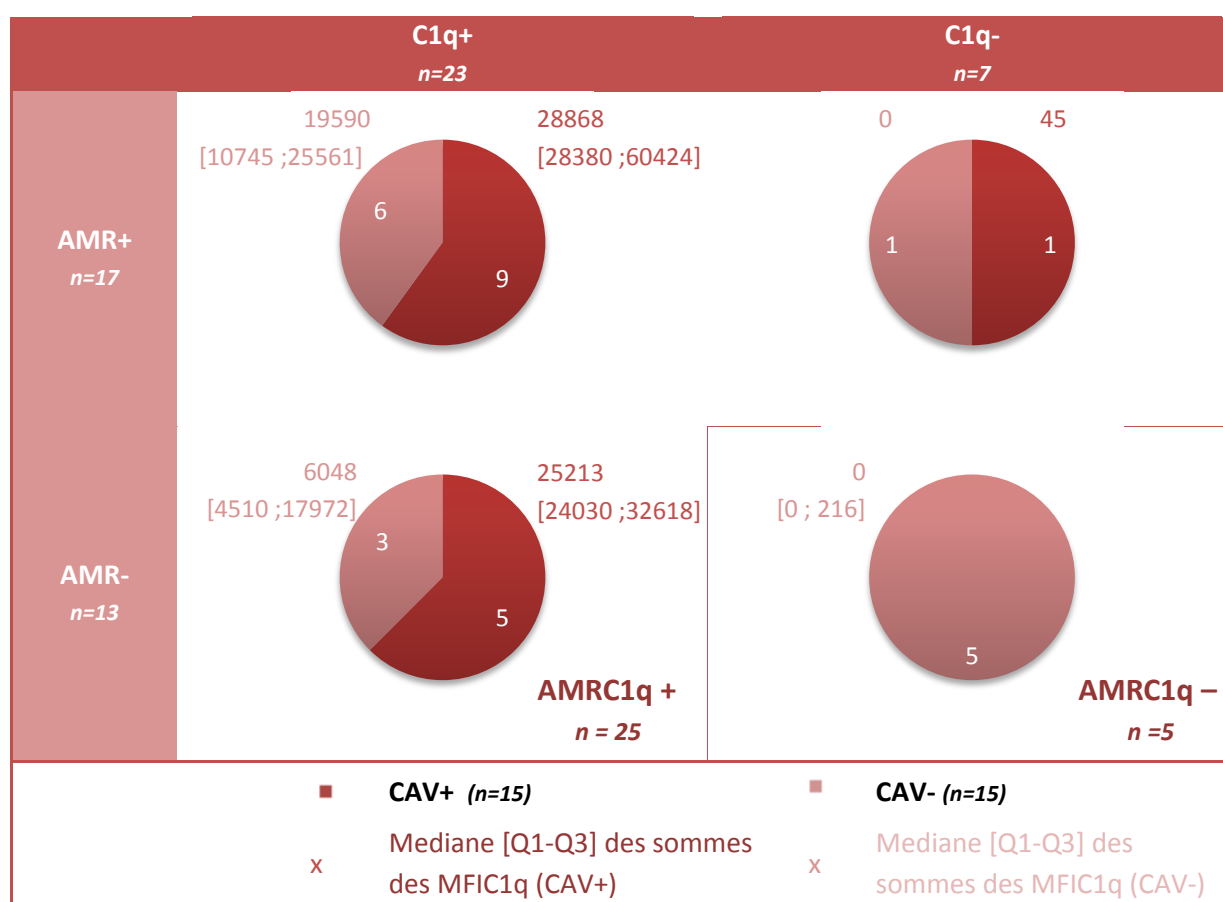


Figure 16: Corrélation des sommes de MFI en technique Luminex SAB et des sommes de MFI en technique C1q

Association entre la combinaison des statuts histologiques (pAMR et ACR) avec le statut C1q et le statut CAV

Nous avons considéré les patients n'ayant présenté aucun épisode de rejet humoral et dont les anticorps anti greffon ne fixaient pas le complément, comme présentant un statut particulier, dénommé « **AMRC1q négatif** ». Le « **statut AMRC1q positif** » a été attribué aux patients ayant présenté au moins un épisode de rejet humoral et/ou porteurs de DSA fixant le complément. La Figure 17 montre que **tous les patients n'ayant présenté aucun rejet humoral et dont les DSA ne fixent pas le complément (AMRC1q -) présentent un statut CAV négatif**.



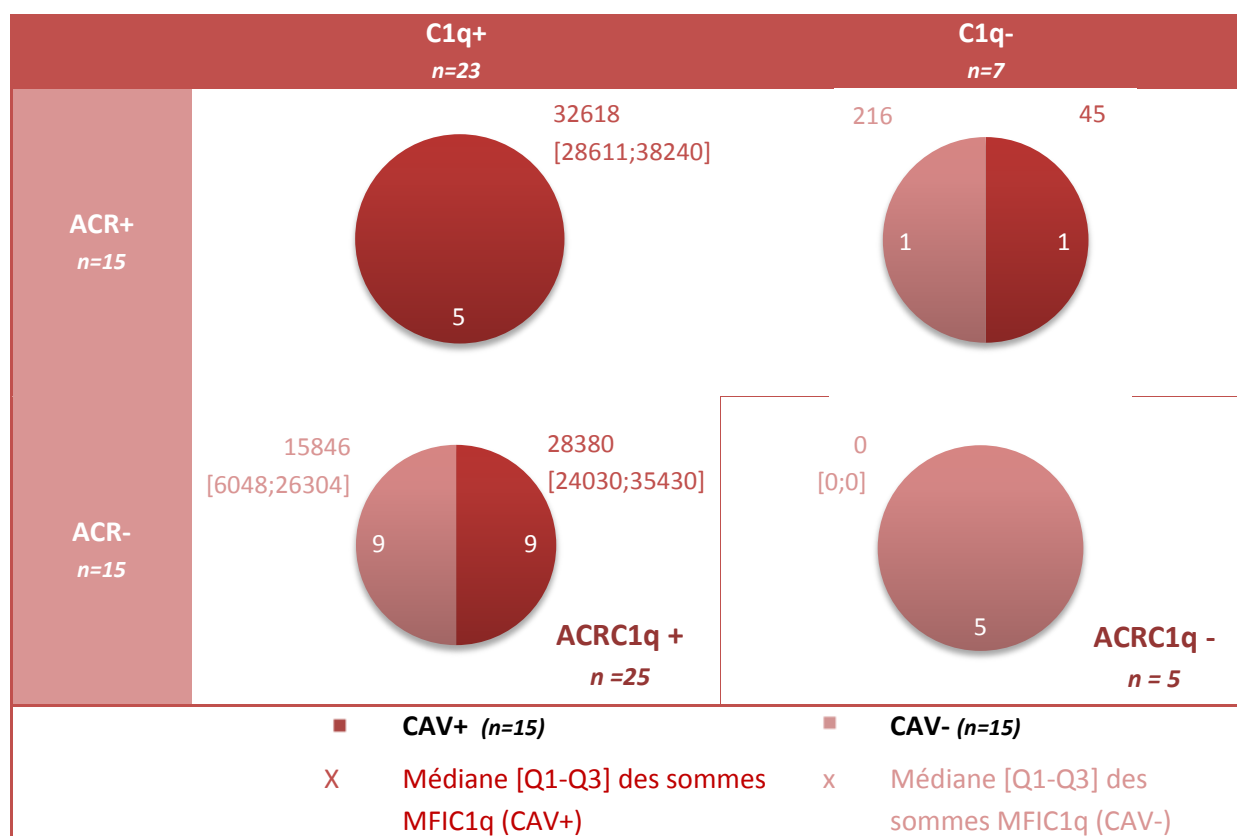
AMRC1q- : Patients n'ayant présenté aucun épisode de rejet humoral et présentant des DSA n'ayant pas la capacité de fixer le complément.

AMRC1q+ : Patients ayant présenté au moins un épisode de rejet humoral et/ou présentant des DSA ayant la capacité de fixer le complément.

Les patients AMRC1q- avaient significativement moins de risque de développer une CAV que les patients AMRC1q+ (p=0.01).

Figure 17: Association entre la combinaison des statuts pAMR avec le statut C1q et le statut CAV

De la même manière, nous avons considéré que les patients n'ayant présenté aucun épisode de rejet cellulaire et dont les anticorps anti greffon ne fixaient pas le complément présentaient un statut particulier dénommé « **ACRC1q négatif** ». Les patients ayant présenté au moins un épisode de rejet cellulaire (classé au moins 1R2A) et/ou présentant des DSA fixant le complément présentaient le « **statut ACRC1q positif** ». La Figure 18 montre de la même manière que **tous les patients n'ayant présenté aucun rejet cellulaire, et dont les DSA ne fixent pas le complément (AMRC1q -), présentent un statut CAV négatif**.



ACRC1q- : Patients n'ayant présenté aucun épisode de rejet cellulaire majeur et présentant des DSA n'ayant pas la capacité de fixer le complément.

AMRC1q+ : Patients ayant présenté au moins un épisode de rejet cellulaire majeur et/ou présentant des DSA ayant la capacité de fixer le complément.

Les patients ACRC1q- avaient significativement moins de risque de développer une CAV que les patients AMRC1q+ (p=0.01)

Figure 18: Association entre la combinaison des statuts ACR majeur avec le statut C1q et le statut CAV

4 – Discussion

Il est actuellement reconnu par la communauté scientifique et médicale que les anticorps anti-HLA spécifiques du donneur (DSA), et plus particulièrement ceux apparus en post transplantation (*de Novo*), sont délétères à long terme pour la survie du greffon (Freitas et al. 2013), (Ticehurst et al. 2011). Les DSA participent au développement de la vasculopathie d'allogreffe à travers une variété de mécanismes dont le principal est l'activation de la voie classique du complément avec formation du complexe d'attaque membranaire (Loupy et al. 2013), (Lachmann et al. 2009). **L'objectif de notre étude était donc de déterminer si la présence d'anticorps anti-HLA spécifiques du donneur, apparus *de Novo*, et ayant la capacité de fixer la fraction C1q du complément, constituait un facteur de risque de développement de vasculopathie d'allogreffe en transplantation cardiaque.** Secondairement l'objectif était de savoir si cette évaluation permettait de stratifier le risque de développement de CAV, afin de mieux adapter le suivi et la prise en charge des patients.

Données démographiques et caractéristiques générales des anticorps.

Notre population constituée de 67% d'hommes était représentative de la population générale des patients greffés cardiaques puisqu'actuellement, 70% des patients transplantés cardiaques sont des hommes.(Lund et al. 2015). Tous les DSA ne sont pas « égaux » en termes de pathogénicité. En transplantation cardiaque, il a été démontré que **les DSA *de Novo* étaient plus pathogènes que les DSA préformés** (Ho, Vlad, et al. 2011) . Il a également été démontré que les DSA de **classe II**, plus souvent néoformés que les DSA de classe I (Guihaire et al.2014), étaient associés à un plus mauvais pronostic en transplantation rénale (Loupy, Hill, Jordan 2012) et en transplantation cardiaque (Ho, Vasilescu, et al. 2011). Enfin la présence de **DSA *de Novo* de type anti DQ** isolé ou associé à d'autres DSA serait significativement associée à un risque accru de perte de l'allogreffe en transplantation rénale (Freitas et al. 2013) et en transplantation cardiaque (Ticehurst et al. 2011). La quasi-totalité de nos patients avait développé au moins un anticorps HLA anti greffon de classe II (30/31) et la majorité un anticorps de type anti DQ (27/31). Notre population avait donc un risque élevé de présenter un rejet d'allogreffe, et pourtant, parmi cette population, un sous-groupe de patient était indemne de lésion coronarienne. Ce résultat confirme la nécessité de

définir des critères histologiques et/ou d'autres critères cliniques, immunologiques et/ou moléculaires pour isoler des sous-groupes de patients avec des profils évolutifs différents.

Données de la relecture des biopsies endomyocardiques de suivi

Statut ACR et CAV

Nous avons observé un **nombre d'épisodes de rejet cellulaire majeur** (classé au moins 2R) **plus élevé** chez les patients porteurs d'un statut CAV positif. Ces résultats étaient cohérents avec ceux de la littérature. De nombreux auteurs ont, en effet, recherché une association entre la survenue d'un rejet aigu et le développement de la CAV (Costello, Mohanakumar, et Nath 2013). Les études ayant observé une association entre la sévérité et la fréquence de rejet avec la gravité de la CAV, soutiennent l'hypothèse que le **processus inflammatoire global** survenant au cours d'un rejet cellulaire aigu est à l'origine du développement des lésions, ou du moins permet de potentialiser un processus déjà en cours impliquant la cellule endothéliale (cellule exprimant les molécules HLA de classe I à l'état basal et dans un contexte inflammatoire, coexprimant les molécules HLA de classe I et II) et le système immunitaire (Schmauss et Weis 2008). Ho et al sont allés encore plus loin, en observant, chez 950 receveurs d'allogreffes cardiaques, que le rejet cellulaire de grade 3 précédait le développement des anticorps *de Novo* chez 76% des patients. Ils montraient ainsi **l'interaction complexe existant entre les cellules T et les cellules B** à l'origine de la réponse allo immune (Ho, Vlad, et al. 2011).

Statut AMR et CAV

Le **rejet humoral** du greffon a longtemps été méconnu et sous-estimé. Il serait pourtant présent chez **10 à 20 %** des transplantés cardiaques (Moseley et al. 2010), (Guihaire et al. 2014). Dans notre étude, 17 patients sur les 31 patients inclus (55%), ont présenté un « statut AMR positif ». Cependant, parmi ces 17 patients, 10 n'ont présenté qu'un seul épisode de rejet humoral. La lecture rétrospective ne permettant pas d'interpréter l'immunofluorescence du C4d chez tous les patients ; la congélation n'étant réalisée de manière systématique qu'à partir de 2006 dans notre centre, un certain nombre de patients s'est vu assigné un « statut AMR positif » sur l'appréciation de critères morphologiques isolés et sur une seule biopsie durant leur suivi. Ces critères morphologiques sont parfois

d'interprétation difficile et malgré les efforts de l'ISHLT (Berry et al. 2013) pour mettre en place une classification fiable, la **reproductibilité diagnostique globale inter-observateur** reste encore **insuffisante** (Berry et al. 2011). L'absence de signe de rejet humoral semble être un critère plus facile d'interprétation et plus facilement reproductible. Contrairement à Loupy et al, nous n'avons pas obtenu d'association significative entre la survenue d'épisode d'AMR et le statut CAV des patients, peut-être du fait d'un échantillonnage insuffisant ou peut être également du fait d'une surinterprétation du rejet humoral dans notre population. Cette hypothèse de surinterprétation est encore appuyée par le fait que nous observons un nombre de rejet humoral diagnostiqué pAMR2 (de diagnostic plus facile) plus important dans le groupe CAV+ que dans le groupe CAV-, alors que le nombre de rejet pAMR1 (H+) est équivalent dans les 2 groupes. Récemment, J.P. Duong a souligné la **nécessité d'affiner le diagnostic d'inflammation microvasculaire** en proposant un grading histologique spécifique prenant en compte le caractère localisé ou extensif de ce processus (Duong et al. 2014). Possiblement, l'ajout de **l'étude du profil moléculaire** (transcrits endothéliaux et/ou cytokines inflammatoires) pourrait également être proposé en combinaison avec le grading histologique pour appréhender au mieux l'inflammation microvasculaire. Cette approche déjà proposée en transplantation rénale semble être prometteuse pour une prise en charge ciblée des patients (A. Loupy et al. 2014).

Loupy et al soutiennent la notion récente d'un continuum dans l'histoire naturelle de l'AMR chronique en transplantation rénale (A Loupy, et al 2012) et cardiaque (A. Loupy et al. 2015). Il serait peu probable selon ces auteurs, que les lésions de vasculopathie cardiaque d'allogreffe soient le résultat d'un seul épisode d'AMR, mais qu'elles représentent plutôt **un processus dynamique** qui commence tôt après la transplantation et continue, sans relâche, à différents niveaux par la suite. Dans notre étude, le nombre de patients ayant présenté des épisodes multiples de rejet humoraux était plus élevé chez les patients présentant des lésions de vasculopathie d'allogreffe, soutenant ainsi cette théorie. D'autant plus que le seul patient du groupe CAV- ayant présenté de multiples épisodes d'AMR, présentait un profil psychologique particulier et n'a pu bénéficier du traitement conventionnel de rejet humoral. Les cinq épisodes de rejets humoraux diagnostiqués chez ce patient pourraient être considérés comme un seul épisode non traité.

Cependant, malgré la tendance observée dans nos résultats, la recherche rétrospective de survenue d'épisodes de rejets cellulaires et ou humoraux en histologie dans le suivi d'un patient semble actuellement insuffisante pour prédire le développement de lésions de CAV.

Anticorps IgG anti-HLA donneurs spécifiques circulants

Quelle valeur accorder à la MFI des DSA IgG en technique Luminex SAB pour prédire le risque de CAV ? Un large débat existe sur **la valeur seuil de positivité de MFI** en transplantation cardiaque et rénale (G. Chen, Sequeira, et Tyan 2011). Il n'y a actuellement **pas de consensus concernant** ce seuil. De nombreuses études ont tenté de montrer que plus la MFI des anticorps était élevée plus le risque de développement de rejet chronique était important (Zachary et al. 2009). D'autres auteurs se sont plus spécifiquement intéressés à **la somme de MFI** (effet cumulatif pathogène des anticorps HLA anti greffon). Ainsi, Malheiro et al ont constaté en transplantation rénale qu'une somme de MFI > 11000 avait une spécificité élevée (92,3%) de prédire la survenue d'un rejet humoral (Malheiro et al. 2015). Dans notre étude nous n'obtenons pas d'association entre la MFI et la survenue de lésions de CAV même si la moyenne et la médiane des sommes de MFI tendent à être plus importantes chez les patients CAV + ($p=0.07$). Notre travail apporte cependant une avancée puisqu'en effectuant une **analyse en sous-groupe**, nous avons observé que les patients du groupe CAV- n'ayant jamais présenté de rejet humoral (AMR-) avaient une médiane des sommes de MFI IgG inférieure aux patients du groupe CAV+ AMR- ($p=0,067$).

Anticorps anti-HLA spécifiques du donneur fixant la fraction C1q du complément

Selon les études, le pourcentage de **DSA C1q positif varie entre 20 et 40%** (Llorente et al. 2012). Dans notre étude, le pourcentage de DSA capable de fixer le complément était de 54%. En transplantation rénale, des **niveaux élevés d'anticorps anti-HLA spécifiques du donneur et leur capacité de fixation du complément ont été associés à une augmentation de la gravité de l'artériosclérose** (A. Loupy et al. 2015). Nos résultats allaient également dans

ce sens puisque le pourcentage de patients présentant un « statut C1q positif » était plus élevé dans le groupe CAV+ (14/15 : 93%) que dans le groupe CAV- (9/15 : 60%).

Afin d'améliorer la valeur de prédiction du test C1q, nous avons utilisé la somme de MFI des DSA en technique C1q. Notre étude a montré qu'il existait une association statistiquement significative entre la valeur de la somme des MFI C1q et le risque de survenue de CAV ($p=0.05$). Cependant, malgré la significativité de nos résultats, les écarts types des sommes étudiées demeuraient assez importants. Afin de définir une valeur seuil pouvant statuer sur le risque de développement de lésions, l'interprétation de nos résultats devrait être validée sur une plus grande cohorte.

L'évaluation des critères immunologiques, avec notamment la recherche de capacité de fixation des DSA au complément, semble donc assez pertinente pour prédire la survenue de CAV mais demeure insuffisante.

Corrélation entre la MFI des DSA en technique IgG et la MFI en technique C1q

Les résultats divergent d'une étude à l'autre sur l'existence ou l'absence de **corrélation entre les MFI en technique SAB et les MFI en technique C1q**. L'étude de Llorente de 2011 conclut en l'absence de corrélation entre les niveaux de MFI en technique IgG LMX par rapport à ceux détectés en C1q-LMX. Des DSA de classe I avec des MFI IgG à 700 étaient en mesure de fixer le C1q, tandis que d'autres DSA avec des MFI à 14 500 ne le faisaient pas. Les résultats des études de Tambur et Peacock vont dans ce sens également (A. R. Tambur et al. 2015),(Peacock et al. 2014). D'autres études concluent en la présence d'une corrélation entre la capacité de liaison du C1q et la valeur de MFI en technique luminex standard (Yell et al. 2015). **Dans notre étude**, nous avons également observé une **corrélation entre les MFI C1q et les MFI des IgG en technique Luminex standard**. L'absence de corrélation observée dans certains travaux pourrait être expliquée par l'effet technique prozone qui peut sous-estimer les MFI en technique luminex SAB (Peacock et al. 2014).

Evolutivité de la capacité de fixation dans le temps

Certaines études ont montré que la négativité du test C1q n'excluait pas l'absence d'immunoglobuline fixant le complément, la densité antigénique des billes n'étant pas toujours identique à celle des tissus (Schaub et al. 2014). D'autre part, certains travaux ont

montré qu'il pouvait exister une **variabilité de la capacité de fixation du C1q aux DSA** dans le temps (notamment en fonction des thérapeutiques), (Chen et al. 2011). L'intérêt de notre étude réside dans le fait que les analyses des anticorps anti-HLA spécifiques du donneur fixant le C1q ont été réalisées de façon concomitante à l'analyse histologique (évaluation in situ du rejet) et à distance d'un traitement éventuel par plasmaphérèse et/ou par Immunoglobuline. La présence d'un rejet humoral, caractérisé notamment par la présence d'une inflammation microvasculaire, en transplantation rénale ou en transplantation cardiaque, était considérée comme le reflet d'une agression de l'endothélium, de son activation et traduit donc le caractère pathogène du DSA. L'apparition de cette inflammation microvasculaire sur les BEM a justifié une nouvelle évaluation des anticorps anti-HLA spécifiques du donneur fixant le complément.

De façon intéressante, **la variabilité du test C1q semble assez limitée dans le temps** : sur les 10 cas retestés, seuls 2 ont présenté un changement de statut. L'apparition de l'inflammation microvasculaire pour l'un des cas s'est illustrée par la positivation de ce test. Dans un autre cas, le test s'est négativé (effet du traitement, corrélation avec la MFI ? ou possibilité de fixation sur le greffon de la majorité des DSA ?). L'intérêt de l'analyse histologique dans ce cas permet une évaluation in situ, indispensable pour appréhender la cytotoxicité du DSA. Cependant, les conclusions ne sont pas formelles car le second test C1q n'a été réalisé que sur une partie des sérums, ceux dont le statut histologique présentait une variabilité dans le temps et dont la réévaluation sur un second sérum apportait donc un intérêt.

Association entre la cytotoxicité des DSA (C1q-LMX) et le statut AMR du patient

Il a été démontré dans une étude en transplantation cardiaque et dans plusieurs études en transplantation rénale (Crespo et al. 2013), (Yell et al. 2015), (Loupy et al. 2015) qu'il existe une association entre le statut AMR d'une biopsie et la présence de DSA cytotoxiques dans le sérum concomitant. Nos résultats qui ont porté sur 37 tests ne sont pas en faveur de cette hypothèse, peut-être comme précédemment décrit, du fait d'un échantillonnage insuffisant, ou peut-être également, du fait d'une surinterprétation du rejet humoral dans notre population.

Association entre la combinaison des statuts histologiques (pAMR et ACR) avec le statut C1q et le statut CAV

En transplantation rénale, des niveaux élevés d'anticorps anti-HLA spécifiques du donneur et leur capacité de fixation du complément ont été associées à une augmentation de la gravité de l'artériosclérose (Loupy et al. 2015). Nos résultats vont également dans ce sens puisque **nous avons observé que tous les patients n'ayant présenté aucun rejet humoral et dont les DSA ne fixaient pas le complément (AMRC1q-) présentaient un statut CAV négatif. De plus, tous les patients n'ayant présenté aucun rejet cellulaire majeur (classé au moins 2R) et dont les DSA ne fixaient pas le complément (AMRC1q-) présentaient également un statut CAV négatif.** Au vu de ces résultats, nous pouvons donc individualiser un groupe de patients à faible risque de développement de CAV parmi les patients greffés cardiaques présentant des DSA *de Novo* persistants. Ce groupe, constitué de patients n'ayant aucun antécédent de rejet humoral et/ou cellulaire majeur durant leur suivi et dont les DSA, malgré leur persistance dans le temps, n'ont pas la capacité de fixer le complément, semble présenter un plus faible risque de développement de CAV que ceux ayant un antécédent de rejet cellulaire majeur et/ou humoral et/ou présentant des DSA ayant la capacité de fixer le complément.

Les dernières études s'étant intéressées au dépistage des lésions de CAV par des techniques non invasives (IRM, Scintigraphie, coroscaner), montrent des résultats intéressants mais insuffisants (Guihaire et al.2014), (Wever-Pinzon et al. 2014) . La coronarographie, demeure donc le gold standard pour le dépistage de ces lésions. Le groupe de travail de l'ISHLT: « Soins de longue durée des patients greffés cardiaques », recommande la réalisation d'une coronarographie annuelle ou semestrielle pour évaluer le développement de la CAV. Les patients indemnes de CAV à 3 - 5 ans après la transplantation, et en particulier ceux présentant une insuffisance rénale, devrait avoir une évaluation angiographique moins fréquente. Niveau de preuve: C (Costanzo et al. 2010). En France, il n'existe pas de consensus concernant le rythme de réalisation des examens coronarographiques. En intégrant les données histologiques et biologiques via la technique du C1q, notre étude permet de stratifier le risque de développement de lésions de CAV et peut ainsi apporter des recommandations supplémentaires pour le suivi coronarographique de dépistage. La

coronarographie, malgré des progrès sur les voies d'abord (radiale) et la résolution d'image, reste un examen invasif et néphrotoxique. Grâce aux résultats de notre étude, nous pourrions limiter le nombre d'examens chez des patients à risque de CAV et proposer un suivi coronarographique plus espacé pour le groupe de patients AMRC1q- et ACRC1q-, en suivant l'arbre décisionnel suivant (figure 19):

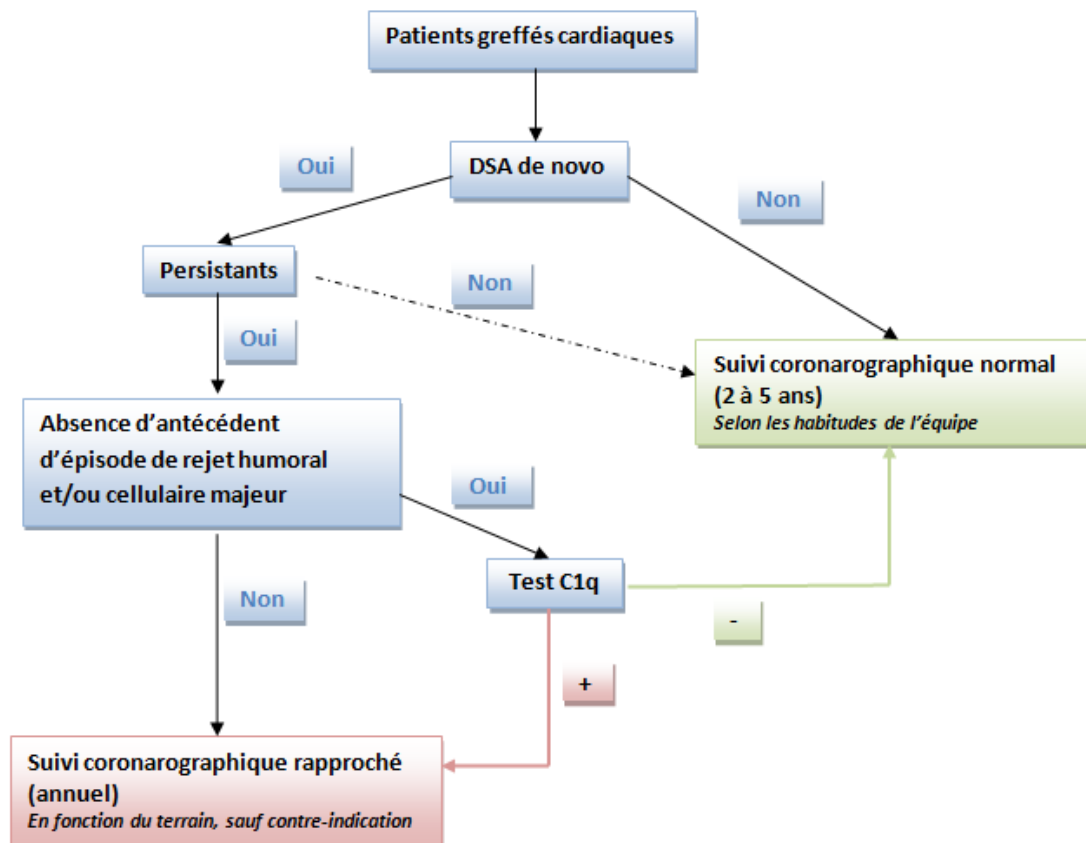


Figure 19: Arbre décisionnel orientant le suivi coronarographique d'un patient greffé cardiaque

IV - Conclusion et perspectives

Malgré les limites de cette étude, à savoir la petite taille de l'échantillon et sa conception rétrospective, celle-ci suggère une avancée dans le développement de modèles de stratification du risque de survenue de vasculopathie cardiaque d'allogreffe. En effet, en se basant sur l'intégration des propriétés des anticorps HLA anti greffon combinée aux données histologiques (la détection isolée d'un paramètre ne permettant pas de faire une stratification aussi fine), cette étude permet d'isoler un sous-groupe de patient (sans antécédent de rejet histologique et dont les DSA ne fixent pas le complément) à risque moindre de développer des lésions coronaires de vasculopathie cardiaque d'allogreffe. Ainsi ce sous-groupe de patients pourrait bénéficier d'un modèle de suivi coronarographique plus adapté, en limitant le risque de radiation, de complications vasculaires et rénales. La prise en charge de la maladie coronaire du greffon, première cause de mortalité à distance de la greffe, reste limitée à l'heure actuelle et la retransplantation est le seul traitement efficace dans les formes sévères. Notre modèle de suivi coronarographique serait d'autant plus intéressant à appliquer chez les jeunes patients, souvent seuls candidats à la retransplantation. D'autres études sont cependant nécessaires pour confirmer les tendances observées et pour encore mieux définir les seuils des paramètres clinico-histologico-biologiques étudiés, dans le but d'intégrer dans le suivi des patients le test C1q, en pratique conventionnelle.

V – Bibliographie

- Agarwal, Shikhar, Akhil Parashar, Samir R. Kapadia, E. Murat Tuzcu, Dhruv Modi, Randall C. Starling, et Guilherme H. Oliveira. 2014. « Long-Term Mortality After Cardiac Allograft Vasculopathy ». *JACC: Heart Failure* 2 (3): 281-88.
- Benatti, Rodolfo Denadai, et David O. Taylor. 2014. « Evolving Concepts and Treatment Strategies for Cardiac Allograft Vasculopathy ». *Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine* 16 (1).
- Berry, Gerald J., Annalisa Angelini, Margaret M. Burke, Patrick Bruneval, Michael C. Fishbein, Elizabeth Hammond, Dylan Miller, et al. 2011. « The ISHLT Working Formulation for Pathologic Diagnosis of Antibody-Mediated Rejection in Heart Transplantation: Evolution and Current Status (2005–2011) ». *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 30 (6): 601-11.
- Chamorro, C.I., L. Almenar, L. Martínez-Dolz, E. Reganon, E. Sánchez-Lacuesta, P. Villa, F. Ten, L. Andrés, V. Martínez-Sales, et A. Salvador. 2006. « Usefulness of von Willebrand Factor in Cardiac Allograft Vasculopathy: Preliminary Experience ». *Transplantation Proceedings* 38 (8): 2566-68.
- Chen, G., F. Sequeira, et D.B. Tyan. 2011. « Novel C1q Assay Reveals a Clinically Relevant Subset of Human Leukocyte Antigen Antibodies Independent of Immunoglobulin G Strength on Single Antigen Beads ». *Human Immunology* 72 (10): 849-58.
- Chen, Yi-Je, Jenny Lam, Clare R. Gregory, Sonja Schrepfer, et Heike Wulff. 2013. « The Ca²⁺-Activated K⁺ Channel KCa3.1 as a Potential New Target for the Prevention of Allograft Vasculopathy ». Édité par Bernard Attali. *PLoS ONE* 8 (11): e81006.
- Chin, Clifford, Ge Chen, Flavia Sequeria, Gerald Berry, Stephanie Siehr, Daniel Bernstein, David Rosenthal, Olaf Reinhartz, et Dolly Tyan. 2011. « Clinical Usefulness of a Novel C1q Assay to Detect Immunoglobulin G Antibodies Capable of Fixing Complement in Sensitized Pediatric Heart Transplant Patients ». *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 30 (2): 158-63.
- Chirakarnjanakorn, Srisakul, Randall C. Starling, Zoran B. Popović, Brian P. Griffin, et Milind Y. Desai. 2015. « Dobutamine Stress Echocardiography during Follow-up Surveillance in Heart Transplant Patients: Diagnostic Accuracy and Predictors of Outcomes ». *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 34 (5): 710-17.
- Costanzo, Maria Rosa, Maria Rosa Costanzo, Anne Dipchand, Randall Starling, Allen Anderson, Michael Chan, Shashank Desai, et al. 2010. « The International Society of Heart and Lung Transplantation Guidelines for the Care of Heart Transplant Recipients ». *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 29 (8): 914-56.
- Costello, John P., Thalachallour Mohanakumar, et Dilip S. Nath. 2013. « Mechanisms of chronic cardiac allograft rejection ». *Texas Heart Institute Journal* 40 (4): 395.
- Crespo, Marta, Alberto Torio, Virginia Mas, Dolores Redondo, Maria J. Pérez-Sáez, Marisa Mir, Anna Faura, et al. 2013. « Clinical Relevance of Pretransplant Anti-HLA Donor-Specific Antibodies: Does C1q-Fixation Matter? ». *Transplant Immunology* 29 (1-4): 28-33.
- Daly, Kevin P., Michael E. Seifert, Anil Chandraker, David Zurakowski, Anju Nohria, Michael M. Givertz, S. Ananth Karumanchi, et David M. Briscoe. 2013. « VEGF-C, VEGF-A and Related Angiogenesis Factors as Biomarkers of Allograft Vasculopathy in Cardiac

- Transplant Recipients ». *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 32 (1): 120-28.
- De Santis, D., D. Dinanuer, J. Duke, H. A. Erlich, C. L. Holcomb, C. Lind, K. Mackiewicz, et al. 2013. « 16th IHIW : Review of HLA Typing by NGS ». *International Journal of Immunogenetics* 40 (1): 72-76.
- Duong Van Huyen, J.-P., M. Tible, A. Gay, R. Guillemain, O. Aubert, S. Varnous, F. Iserin, et al. 2014. « MicroRNAs as Non-Invasive Biomarkers of Heart Transplant Rejection ». *European Heart Journal* 35 (45): 3194-3202.
- Eskandary, Farsad, Markus Wahrmann, Jakob Mühlbacher, et Georg A. Böhmig. 2015. « Complement Inhibition as Potential New Therapy for Antibody-Mediated Rejection ». *Transplant International*, octobre, n/a - n/a.
- Farkash, Evan A., et Robert B. Colvin. 2012. « Pathology: Diagnostic challenges in chronic antibody-mediated rejection ». *Nature Reviews Nephrology* 8 (5): 255-57.
- Ferrari-Lacraz, S., J.-M. Tiercy, et J. Villard. 2012. « Detection of Anti-HLA Antibodies by Solid-Phase Assay in Kidney Transplantation: Friend or Foe? ». *Tissue Antigens* 79 (5): 315-25.
- Freitas, Maria Cecilia S., Lorita M. Rebellato, Miyuki Ozawa, Anh Nguyen, Nori Sasaki, Matthew Everly, Kimberly P. Briley, et al. 2013. « The Role of Immunoglobulin-G Subclasses and C1q in De Novo HLA-DQ Donor-Specific Antibody Kidney Transplantation Outcomes ». *Transplantation Journal* 95 (9): 1113-19.
- Graham, J. A., R. A. Wilkinson, T. Hirohashi, C. M. Chase, R. B. Colvin, J. C. Madsen, J. A. Fishman, et P. S. Russell. 2009. « Viral Infection Induces De Novo Lesions of Coronary Allograft Vasculopathy Through a Natural Killer Cell-Dependent Pathway ». *American Journal of Transplantation* 9 (11): 2479-84.
- Guihaire, J., E. Flécher, C. Chabanne, S. Schrepfer, A. Leguerrier, 2014. « La maladie coronaire du greffon: une complication silencieuse après transplantation cardiaque ». *Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire* 18(1): 33-42.
- Hodges, Aidan M., Haifa Lyster, Anne McDermott, Alexandra J. Rice, John D. Smith, Marlene L. Rose, et Nicholas R. Banner. 2012. « Late Antibody-Mediated Rejection After Heart Transplantation Following the Development of De Novo Donor-Specific Human Leukocyte Antigen Antibody ». *Transplantation*, janvier, 1.
- Ho, Eric K., Elena R. Vasilescu, George Vlad, Charles C. Marboe, Linda J. Addonizio, et Nicole Suci-Foca. 2011. « HLA Antibodies in Pediatric Heart Transplantation: HLA Antibodies in Heart Recipients ». *Pediatric Transplantation* 15 (5): 458-64.
- Ho, Eric K., George Vlad, Elena Rodica Vasilescu, Ludwika de la Torre, Adriana I. Colovai, Elizabeth Burke, Mario Deng, et al. 2011. « Pre- and Posttransplantation Allosensitization in Heart Allograft Recipients: Major Impact of de Novo Alloantibody Production on Allograft Survival ». *Human Immunology* 72 (1): 5-10.
- Jurcevic, Stipo, Mark E. Ainsworth, Ariala Pomerance, John D. Smith, Derek R. Robinson, Michael J. Dunn, Magdi H. Yacoub, et Marlene L. Rose. 2001. « antivenetidin antibodies are an independent predictor of transplant-associated coronary artery disease after cardiac transplantation ». *Transplantation* 71 (7): 886-92.
- Kobashigawa, Jon A., Jonathan M. Tobis, Randall C. Starling, E. Murat Tuzcu, Andrew L. Smith, Hannah A. Valentine, Alan C. Yeung, et al. 2005. « Multicenter Intravascular Ultrasound Validation Study Among Heart Transplant Recipients ». *Journal of the American College of Cardiology* 45 (9): 1532-37.

- Lachmann, Nils, Paul I. Terasaki, Klemens Budde, Lutz Liefeldt, Andreas Kahl, Petra Reinke, Johann Pratschke, et al. 2009. « Anti-Human Leukocyte Antigen and Donor-Specific Antibodies Detected by Luminex Posttransplant Serve as Biomarkers for Chronic Rejection of Renal Allografts ». *Transplantation* 87 (10): 1505-13.
- Lefaucheur, C., A. Loupy, G. S. Hill, J. Andrade, D. Nochy, C. Antoine, C. Gautreau, D. Charron, D. Glotz, et C. Suberbielle-Boissel. 2010. « Preexisting Donor-Specific HLA Antibodies Predict Outcome in Kidney Transplantation ». *Journal of the American Society of Nephrology* 21 (8): 1398-1406.
- Llorente, S., F. Boix, J. Eguia, M. López, A. Bosch, H. Martinez, M.J. Gonzalez, et al. 2012. « C1q-Fixing Human Leukocyte Antigen Assay in Immunized Renal Patients: Correlation Between Luminex SAB-C1q and SAB-IgG ». *Transplantation Proceedings* 44 (9): 2535-37.
- Loupy, A., C. Lefaucheur, D. Vernerey, J. Chang, L. G. Hidalgo, T. Beuscart, J. Verine, et al. 2014. « Molecular Microscope Strategy to Improve Risk Stratification in Early Antibody-Mediated Kidney Allograft Rejection ». *Journal of the American Society of Nephrology* 25 (10): 2267-77.
- Loupy, Alexandre, Gary S. Hill, et Stanley C. Jordan. 2012. « The impact of donor-specific anti-HLA antibodies on late kidney allograft failure ». *Nature Reviews Nephrology* 8 (6): 348-57.
- Loupy, Alexandre, Carmen Lefaucheur, Dewi Vernerey, Christof Prugger, Jean-Paul Duong van Huyen, Nuala Mooney, Caroline Suberbielle, et al. 2013. « Complement-Binding Anti-HLA Antibodies and Kidney-Allograft Survival ». *New England Journal of Medicine* 369 (13): 1215-26.
- Loupy, Alexandre, et Christophe Legendre. 2015. « From Mean Fluorescence Intensity to C1q-Binding: The Saga of Anti-HLA Donor-Specific Antibodies ». *Transplantation* 99 (6): 1107-8.
- Loupy, Alexandre, Dewi Vernerey, Denis Viglietti, Olivier Aubert, Jean-Paul Duong Van Huyen, Jean-Philippe Empana, Patrick Bruneval, et al. 2015. « Determinants and Outcomes of Accelerated Arteriosclerosis Major Impact of Circulating Antibodies ». *Circulation research* 117 (5): 470-82.
- Loupy, A., C. Toquet, P. Rouvier, T. Beuscart, M. C. Bories, S. Varnous, R. Guillemain, et al. 2015. « Late Failing Heart Allografts: Pathology of Cardiac Allograft Vasculopathy and Association With Antibody-Mediated Rejection: Antibody-Mediated Rejection and Cardiac Graft Loss ». *American Journal of Transplantation*, novembre, n/a - n/a.
- Lund, Lars H., Leah B. Edwards, Anna Y. Kucheryavaya, Christian Benden, Anne I. Dipchand, Samuel Goldfarb, Bronwyn J. Levvey, et al. 2015. « The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-Second Official Adult Heart Transplantation Report—2015; Focus Theme: Early Graft Failure ». *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 34 (10): 1244-54.
- Lund, Lars H., Leah B. Edwards, Anna Y. Kucheryavaya, Anne I. Dipchand, Christian Benden, Jason D. Christie, Fabienne Dobbels, et al. 2013. « The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirtieth Official Adult Heart Transplant Report—2013; Focus Theme: Age ». *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 32 (10): 951-64.
- Lu, Wei-hui, Kathy Palatnik, Gregory A. Fishbein, Chi Lai, Daniel S. Levi, Gregory Perens, Juan Alejos, Jon Kobashigawa, et Michael C. Fishbein. 2011. « Diverse Morphologic

- Manifestations of Cardiac Allograft Vasculopathy: A Pathologic Study of 64 Allograft Hearts ». *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 30 (9): 1044-50.
- Mao, Q., P. I. Terasaki, J. Cai, K. Briley, P. Catrou, C. Haisch, et L. Rebellato. 2007. « Extremely High Association Between Appearance of HLA Antibodies and Failure of Kidney Grafts in a Five-Year Longitudinal Study ». *American Journal of Transplantation* 7 (4): 864-71.
- Mehra, Mandeep R., Patricia A. Uber, Hector O. Ventura, Robert L. Scott, et Myung H. Park. 2004. « The Impact of Mode of Donor Brain Death on Cardiac Allograft Vasculopathy ». *Journal of the American College of Cardiology* 43 (5): 806-10.
- Mehra, M. R. 2006. « Contemporary Concepts in Prevention and Treatment of Cardiac Allograft Vasculopathy ». *American Journal of Transplantation* 6 (6): 1248-56.
- Moseley, Ellen L., Carl Atkinson, Linda D. Sharples, John Wallwork, et Martin J. Goddard. 2010. « Deposition of C4d and C3d in Cardiac Transplants: A Factor in the Development of Coronary Artery Vasculopathy ». *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 29 (4): 417-23.
- Otten, H. G., M. C. Verhaar, H. P. E. Borst, R. J. Hené, et A. D. van Zuilen. 2012. « Pretransplant Donor-Specific HLA Class-I and -II Antibodies Are Associated With an Increased Risk for Kidney Graft Failure: HLA Antibodies and Kidney Graft Survival ». *American Journal of Transplantation* 12 (6): 1618-23.
- Peacock, Sarah, Vasilis Kosmoliaptsis, Andrew J. Bradley, et Craig J. Taylor. 2014. « Questioning the Added Value of Luminex Single Antigen Beads to Detect C1q Binding Donor HLA-Specific Antibodies ». *Transplantation* 98 (4): 384-86.
- Pober, J. S., D. Jane-wit, L. Qin, et G. Tellides. 2014. « Interacting Mechanisms in the Pathogenesis of Cardiac Allograft Vasculopathy ». *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 34 (8): 1609-14.
- Qin, Lingfeng, Qunhua Huang, Haifeng Zhang, Renjing Liu, George Tellides, Wang Min, et Luyang Yu. 2014. « SOCS1 Prevents Graft Arteriosclerosis by Preserving Endothelial Cell Function ». *Journal of the American College of Cardiology* 63 (1): 21-29.
- Schaub, Stefan, Gideon Hönger, Michael T. Koller, Robert Liwski, et Patrizia Amico. 2014. « Determinants of C1q Binding in the Single Antigen Bead Assay ». *Transplantation* 98 (4): 387-93.
- Schmauss, D., et M. Weis. 2008. « Cardiac Allograft Vasculopathy: Recent Developments ». *Circulation* 117 (16): 2131-41.
- Schumacher, Kurt R., Robert J. Gajarski, et Simon Urschel. 2012. « Pediatric Coronary Allograft Vasculopathy—A Review of Pathogenesis and Risk Factors ». *Congenital heart disease* 7 (4): 312-23.
- Segura, Ana Maria, et L. Maximilian Buja. 2013. « Cardiac allograft vasculopathy: a complex multifactorial sequela of heart transplantation ». *Texas Heart Institute Journal* 40 (4): 400.
- Seki, Atsuko, et Michael C. Fishbein. 2014. « Predicting the Development of Cardiac Allograft Vasculopathy ». *Cardiovascular Pathology* 23 (5): 253-60.
- Singh, Neha, Eline Van Craeyveld, Marc Tjwa, Agnieszka Ciarka, Jan Emmerechts, Walter Droogne, Stephanie C. Gordts, et al. 2012. « Circulating Apoptotic Endothelial Cells and Apoptotic Endothelial Microparticles Independently Predict the Presence of Cardiac Allograft Vasculopathy ». *Journal of the American College of Cardiology* 60 (4): 324-31.

- Sis, Banu, Gian S. Jhangri, Sakarn Bunnag, Kara Allanach, Bruce Kaplan, et Philip F. Halloran. 2009. « Endothelial Gene Expression in Kidney Transplants with Alloantibody Indicates Antibody-Mediated Damage Despite Lack of C4d Staining ». *American Journal of Transplantation* 9 (10): 2312-23.
- Stewart, Susan, Gayle L. Winters, Michael C. Fishbein, Henry D. Tazelaar, Jon Kobashigawa, Jacki Abrams, Claus B. Andersen, et al. 2005a. « Revision of the 1990 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart rejection ». *The Journal of heart and lung transplantation* 24 (11): 1710-20.
- Störk, Stefan, Thomas M. Behr, Michael Birk, Peter Überfuhr, Volker Klauss, Christoph H. Spes, et Christiane E. Angermann. 2006. « Assessment of cardiac allograft vasculopathy late after heart transplantation: when is coronary angiography necessary? ». *The Journal of heart and lung transplantation* 25 (9): 1103-8.
- Tambur, Anat R., Salpy V. Pamboukian, Maria-Rosa Costanzo, Nancy D. Herrera, Stephanie Dunlap, Michelle Montpetit, et Alain Heroux. 2005. « The Presence of HLA-Directed Antibodies after Heart Transplantation Is Associated with Poor Allograft Outcome ». *Transplantation* 80 (8): 1019-25.
- Tambur, A. R., N. D. Herrera, K. M. K. Haarberg, M. F. Cusick, R. A. Gordon, J. R. Leventhal, J. J. Friedewald, et D. Glotz. 2015. « Assessing Antibody Strength: Comparison of MFI, C1q, and Titer Information: Determining Antibody Strength ». *American Journal of Transplantation* 15 (9): 2421-30.
- Ticehurst, Erin H., Maria R. Molina, Jane Kearns, Lee Goldberg, Donald Tsai, Joyce W. Wald, et Malek Kamoun. 2011. « 113-P Antibody-Mediated Rejection in Heart Transplant Recipients: Long Term Follow up of Patients with High Levels of Donor-Directed Anti-DQ Antibodies ». *Human Immunology* 72 (octobre): S94.
- Vecchiati, Alessandra, Sara Tellatin, Annalisa Angelini, Sabino Iliceto, et Francesco Tona. 2015. « Name of journal: World Journal of Transplantation ESPS Manuscript NO: 7605 Columns: Review ». Consulté le mai 29.
- Wever-Pinzon, Omar, Jorge Romero, Iosif Kelesidis, James Wever-Pinzon, Carlos Manrique, Deborah Budge, Stavros G. Drakos, et al. 2014. « Coronary Computed Tomography Angiography for the Detection of Cardiac Allograft Vasculopathy ». *Journal of the American College of Cardiology* 63 (19): 1992-2004.
- Yabu, Julie M., John P. Higgins, Ge Chen, Flavia Sequeira, Stephan Busque, et Dolly B. Tyan. 2011. « C1q-Fixing Human Leukocyte Antigen Antibodies Are Specific for Predicting Transplant Glomerulopathy and Late Graft Failure After Kidney Transplantation ». *Transplantation* 91 (3): 342-47.
- Yell, Maggie, Brenda L. Muth, Dixon B. Kaufman, Arjang Djamali, et Thomas M. Ellis. 2015. « C1q Binding Activity of De Novo Donor-Specific HLA Antibodies in Renal Transplant Recipients With and Without Antibody-Mediated Rejection ». *Transplantation* 99 (6): 1151-55.
- Zachary, Andrea A., Jeffrey T. Sholander, Julie A. Houpp, et Mary S. Leffell. 2009. « Using Real Data for a Virtual Crossmatch ». *Human Immunology* 70 (8): 574-79.
- Zeevi, Adriana, John Lunz, Brian Feingold, Michael Shullo, Christian Bermudez, Jeffery Teuteberg, et Steven Webber. 2013. « Persistent Strong Anti-HLA Antibody at High Titer Is Complement Binding and Associated with Increased Risk of Antibody-Mediated Rejection in Heart Transplant Recipients ». *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 32 (1): 98-105.

VI - Annexes

Annexe 1

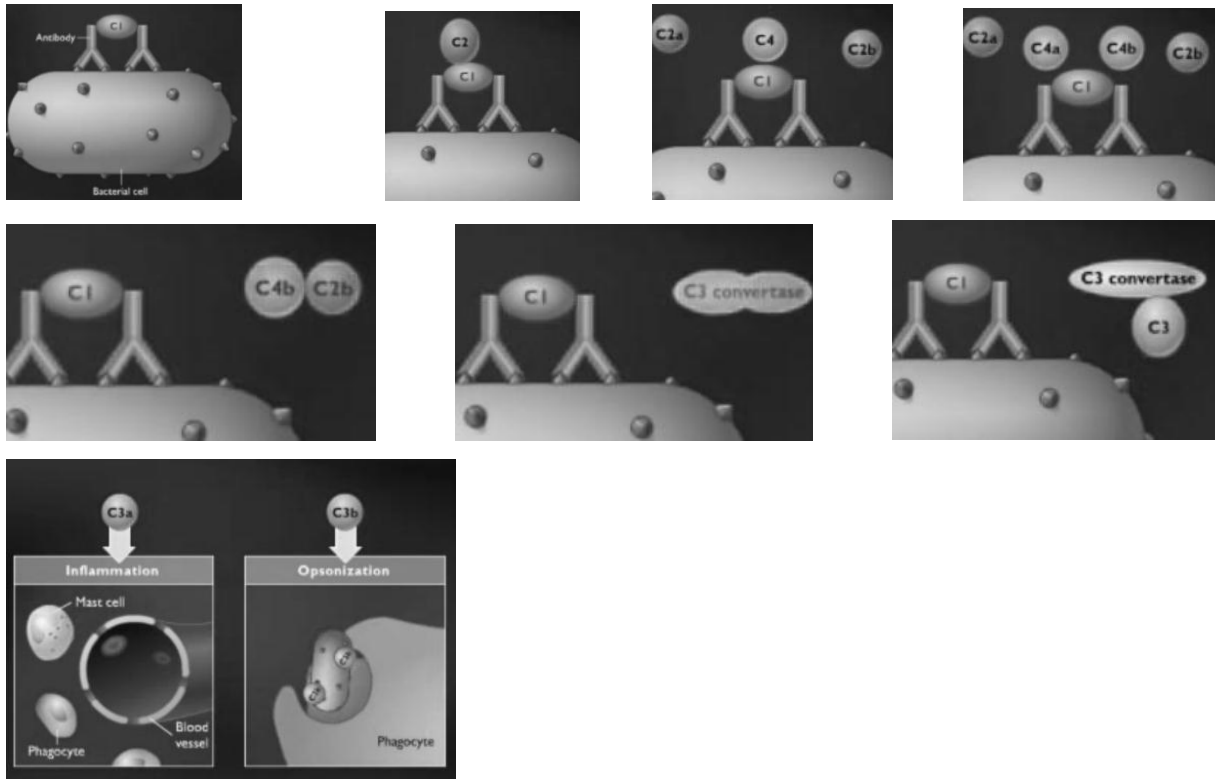
Fréquence génique des principales spécificités HLA –A, -B, -DR observées en France (d’après Système HLA, A.Cesbron)

Locus A		Locus B		Locus DRB1	
Spécificité	Fréquence génique (%)	Spécificité	Fréquence génique (%)	Spécificité	Fréquence génique (%)
A1	13,62	B7	13,17	DRB1*0103	1,57
A2	25,00	B8	8,57	DRB1*01	8,57
A3	15,45	B13	1,77	DRB1*15	12,95
A11	5,21	B64	1,18	DRB1*16	2,37
A23	2,97	B65	3,38	DRB1*03	11,39
A24	10,95	B62	5,42	DRB1*04	12,50
A25	2,17	B63	0,98	DRB1*11	14,08
A26	3,78	B18	8,14	DRB1*12	1,57
A29	5,63	B27	3,99	DRB1*13	13,68
A30	3,38	B35	6,88	DRB1*14	3,38
A31	2,17	B37	0,78	DRB1*07	12,05
A32	2,97	B38	0,78	DRB1*08	3,18
A33	0,78	B39	2,37	DRB1*09	1,57
A34	0,20	B60	2,57	DRB1*10	0,59
A66	0,59	B61	2,37		
A68	4,39	B41	0,59		
A74	0,20	B44	15,68		
A80	0,20	B45	0,20		
		B47	0,20		
		B49	3,99		
		B50	1,77		
		B51	7,51		
		B52	0,59		
		B55	1,97		
		B56	0,59		
		B57	2,57		
		B58	0,59		
		B72	0,20		

Annexe 2

Les différentes voies du complément:

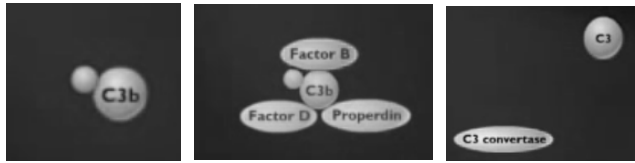
Voie classique :



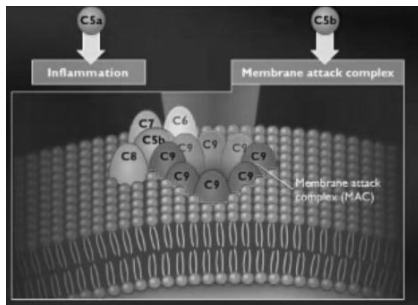
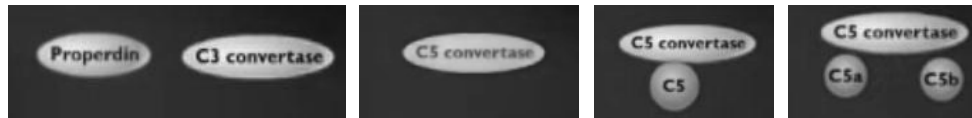
La voie classique est activée par le complexe antigène-anticorps. La région Fc de l'anticorps vient fixer le complexe C1, formé de trois sous-unités: C1q, C1r et C1s. Quand le C1q lie le complexe antigène-anticorps, il devient protéolytique, et clive alors le C4 en C4a et C4b qui se fixe sur la membrane de la cellule. Le C1 activé clive aussi le C2 et c'est C2a qui va rejoindre le C4b sur la membrane de la cellule à lyser. Le complexe C4b2a ainsi formé s'appelle la **C3-convertase** dont le rôle est de scinder C3 en C3a et C3b. Ce dernier se fixe sur la membrane de la cellule à lyser et former le complexe C4b2a3b : c'est la C5 convertase. Chaque clivage libère un petit fragment : C4a, C2b et C3a qui agissent sur les cellules inflammatoires

La voie alterne fixation du C3b sur un site accepteur présent sur une membrane étrangère. Le C3b fixé à une surface lie le facteur B qui est clivé par le facteur D formant la C3-convertase alterne. Cette C3-convertase clive des molécules de C3 pour former un complexe C3bBbC3b, ou C5-convertase alterne. Cette dernière cliver le C5.

Voie alterne :



Voie commune :



Le C3a, agit comme signal de réponse inflammatoire et favorise la migration des globules blancs. Le C3b fixé à la membrane, conduit à la formation du complexe d'attaque membranaire, se liant aux composants tardifs du complément. Le complexe d'attaque forme un canal traversant la membrane cellulaire. La perméabilité de la cellule est alors perturbée. Le mécanisme cellulaire contrôlant l'équilibre des échanges est bouleversé. L'eau entre par osmose dans la cellule, faisant augmenter son volume jusqu'à la lyse.

La formation du c4d : Produit inactif de dégradation du C4 activé par la voie classique du complément. Fixation des DSA sur les molécules HLA. Recrutement du C1q. Clivage et activation du c4 et c2. Fraction du C4b s'associe au c2a et forme le complexe de C3 convertase à la surface de la cellule et qui permet le clivage du C3 et du C5 qui initie formation du complexe d'attaque membranaire (MAC) et la lyse de la cellule endothéliale. Le C4b est clivé par la MCP (membrane cofactor protein) en produit de dégradation C4d non soluble (contrairement aux autres produits de dégradation), se fixant de façon covalente à la surface des cellules endothéliales. Le C4d est reconnu par les lymphocytes B et les cellules dendritiques permettant de réguler la réponse immunitaire humorale. Disparition en quelques jours à quelques mois. **Le c4d** est donc un marqueur de l'activation de la voie classique du complément, détectable sur coupe histologique, témoignant de la fixation d'anticorps au niveau des cellules endothéliales. La technique est réalisée en routine soit par IF sur coupe congelée, soit par IHC sur coupe en paraffine. Les Ig et les facteurs de la cascade d'activation du complément sont éliminés rapidement et ne sont donc pas détectable par les techniques conventionnelles d'IH.

Annexe 3 :

Formulaire de consentement.

	Constitution d'une collection d'échantillons pour un programme de recherche intitulé : « Génétique et biomarqueurs des pathologies cardiovasculaires, respiratoires et leurs facteurs de risques »	Date d'application : 21/11/2011 Page 2 sur 2
---	---	--

Le CHU de Nantes réalise un programme de recherche sur la génétique et les biomarqueurs des pathologies cardiovasculaires, respiratoires et leurs facteurs de risque. Son but est de permettre la découverte de marqueurs génétiques ou biologiques associés à la survenue ou à l'évolution des maladies. Cette recherche est réalisée à partir des échantillons disponibles au cours de votre prise en charge, ou grâce à la réalisation d'un prélèvement de sang ne comportant que des risques négligeables. Elle pourra également comprendre l'examen de vos caractéristiques génétiques. En cas d'absence de consentement, vos échantillons seront détruits et aucun prélèvement de sang ne sera réalisé. Cette recherche peut également nécessiter le recueil de données médicales vous concernant, y compris des informations d'origine ethnique ou raciale. Afin de respecter leur confidentialité, ces données seront codées.

Merci de nous indiquer votre décision en complétant et signant ce document qui sera joint à votre dossier médical et transmis au service en charge du stockage de vos échantillons biologiques.

Je déclare avoir compris le but et les modalités de cette recherche, qui m'ont été expliqués par le Dr/Pr.....

Je soussigné(e) (la personne prélevée) :
☐ Mlle ☐ Mme ☐ M. Nom de famille :
Nom de jeune fille : Prénom :
né(e) le : []/[]/[] A (lieu de naissance) :
précise :
☐ être majeur et ne bénéficier d'aucune mesure de protection légale (tutelle, curatelle, sauvegarde de justice)
☐ être mineur *
☐ bénéficier d'une mesure de protection légale : ☐ Tutelle, ☐ Curatelle, ☐ Sauvegarde de justice

Le cas échéant, le ou les représentants légaux (pour les mineurs, et personnes protégées par la loi) ; la personne de confiance désignée ou un membre de la famille (pour les situations d'urgence)
☐ Mlle ☐ Mme ☐ M. Nom de famille : Prénom :
Nom de jeune fille : Né(e) le : []/[]/[] A (lieu de naissance) :
☐ Mlle ☐ Mme ☐ M. Nom de famille : Prénom :
Nom de jeune fille : Né(e) le : []/[]/[] A (lieu de naissance) :

Je suis libre de refuser ou d'accepter ma participation à la réalisation de cette recherche et à l'utilisation des données associées. Ma décision n'aura aucun effet sur ma prise en charge médicale, notamment sur la qualité des soins qui me sont et me seront apportés.

Merci d'indiquer votre décision en cochant la ou les cases correspondant à votre choix

☐ J'accepte ou ☐ je refuse de faire don de mes échantillons au CHU de Nantes : il s'agit des échantillons disponibles au cours de ma prise en charge ou par prélèvement direct de sang. Les échantillons et les données associées codées me concernant, seront conservés et utilisés par le CHU de Nantes pour la recherche décrite en haut de ce formulaire dans les conditions présentées dans la note d'information jointe.

☐ J'accepte ou ☐ je refuse que mes échantillons soient utilisés pour la recherche en dehors du CHU de Nantes : il s'agit de mes échantillons biologiques, ainsi que des données associées codées. J'accepte qu'ils soient laissés à l'usage de tiers en France ou à l'étranger, dans le respect de la réglementation, afin qu'il(s) effectue(nt) la recherche décrite en haut de ce formulaire et dans les conditions présentées par l'équipe médicale ainsi que dans la note d'information jointe.

☐ Je souhaite ou ☐ je ne souhaite pas être informé(e) dans le cas où les travaux de recherche mettent en évidence de nouveaux résultats intéressant ma santé.

Ce formulaire et toutes les informations personnelles me concernant resteront strictement confidentiels, sont et resteront couverts par le secret professionnel et médical, ainsi que par le respect dû à ma vie privée. En vertu de la loi « Informatique et Libertés » du 06/01/1978 modifiée (notamment par la loi n° 2004-801 du 6/08/2004) le traitement informatisé de mes données personnelles a été autorisé par la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL) et je dispose à cet égard d'un droit d'accès, d'opposition, et de rectification des données enregistrées sur informatique à tout moment, par l'intermédiaire de mon médecin.

Date : Signature du médecin :

Signature des représentants légaux* : Signature du patient :

*Pour les mineurs : si la mère ou le père signe seul, il s'engage à avoir obtenu l'accord de l'autre parent

Je suis libre de revenir sur ma décision en le signifiant au secrétariat de la direction de la recherche, 5 allée de l'île Gloriette, 44 093 NANTES cedex 01 ; par téléphone : 02 53 48 28 35 ; par fax : 02 53 48 28 36 ; ou par e-mail : rderecherche@chu-nantes.fr Préciser dans la demande le service et le nom du programme (mentionnés en haut de page)

Vu, le Président du Jury,

(tampon et signature)

Vu, le Directeur de Thèse,

(tampon et signature)

Vu, le Doyen de la Faculté,

(tampon et signature)

Titre de Thèse :

**MALADIE CORONAIRE DU GREFFON ET ALLOIMMUNISATION ANTI-HLA APRES
TRANSPLANTATION CARDIAQUE.**

RESUME

Le but de cette étude était de déterminer si les anticorps anti-HLA spécifiques du donneur (DSA) fixant le C1q prédisposaient au développement de la maladie coronaire du greffon (vasculopathie cardiaque d'allogreffe (CAV)). Ont été analysés les biopsies et les sérums de 31 patients greffés cardiaques avec des DSA +, dont 16 présentaient une CAV (groupe CAV+) et 15 une coronarographie normale (groupe CAV-). 14 patients étaient AMR- (sans antécédent de rejet humoral) ; 17 AMR+, 24 ACR- (sans antécédent de rejet cellulaire majeur) ; 7 ACR+. 23 patients présentaient des DSA C1q+. Les DSA étaient plus souvent C1q+ dans le groupe CAV+ (93% vs 60%). Les médianes de MFI de DSA IgG et de DSA C1q étaient corrélées ($p < 0.001$). La médiane des MFI DSA C1q était significativement plus élevée dans le groupe CAV+ ($p = 0.05$). De façon intéressante, tous les patients sans AMR et/ou sans ACR majeur et dont les DSA étaient C1q-, étaient CAV- ($p < 0.01$). L'utilisation du test C1q combinée aux données histologiques pourrait donc affiner la stratification du risque de CAV chez les transplantés cardiaques.

MOTS-CLES

**TRANSPLANTATION CARDIAQUE – MALADIE CORONAIRE DU GREFFON - VASCULOPATHIE
CARDIAQUE D'ALLOGREFFE – ANTICORPS ANTI-HLA SPECIFIQUES DU DONNEUR – C1Q –
REJET HUMORAL– REJET CELLULAIRE**