

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

Année 2014

N° 187

THESE

pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

NEPHROLOGIE

par

Mme Agnès CHAPELET-DEBOUT

née le 24 mai 1985 à Nantes (44)

Présentée et soutenue publiquement le 27 Octobre 2014

**LESIONS D'INFLAMMATION DE LA MICROCIRCULATION RENALE ISOLEES,
SUR UNE BIOPSIE PROTOCOLAIRE A 1 AN DE LA GREFFE
ET FONCTION RENALE À MOYEN TERME, DES TRANSPLANTES RENAUUX**

Président : Madame le Professeur Magali GIRAL

Directeur de thèse : Madame le Professeur Magali GIRAL

Membres du jury : Monsieur le Professeur Jacques DANTAL
Monsieur le Professeur Régis JOSIEN
Madame le Docteur Karine RENAUDIN-AUTAIN
Monsieur le Docteur Maxime TOUZOT

REMERCIEMENTS

A ma directrice de thèse, Madame le Professeur Magali GIRAL,

Merci d'avoir accepté de diriger ce travail, merci de m'avoir initiée au travail collaboratif avec d'autres disciplines, et à la recherche clinique. Merci pour ces visites aux « greffes » riches d'apprentissages.

A Monsieur le Docteur Maxime TOUZOT,

Merci d'avoir fait germer l'idée de ce travail, de me l'avoir confié, et de m'avoir encouragée à le présenter autant que possible. Merci pour tout de que tu m'as appris, en pratique clinique comme scientifique. Merci de revenir à Nantes participer à mon jury de thèse.

A Monsieur le Professeur Jacques DANTAL,

Merci de m'avoir fait profiter de vos connaissances médicales au contact des patients. Merci d'avoir accepté de venir juger mon travail.

A Monsieur le Professeur Régis JOSIEN,

Merci de me faire l'honneur d'avoir accepté de venir juger mon travail, et d'apporter votre savoir scientifique à la discussion.

A Madame le Docteur Karine RENAUDIN-AUTAIN,

Merci de votre expertise histologique et de vos conseils judicieux au cours du long processus de préparation de la thèse. Merci pour toutes ces biopsies que vous nous expliquez au quotidien.

A ma chef de service, Madame le Professeur Maryvonne HOURMANT, *Merci de m'avoir permis de réaliser ma formation de Néphrologie dans votre service.*

A l'ensemble des médecins des services de Néphrologie, de Réanimation médicale, d'Endocrinologie, d'Infectiologie du CHU et de Cardiologie de Saint Naz, *Merci de m'avoir fait profiter de votre expérience*

A mes chefs de clinique, Alexandre, Claire, Grégoire, Maxime, Morgane, et Odette, *Merci de m'avoir transmis votre passion de la Néphrologie et de m'avoir accompagnée au quotidien dans mon apprentissage.*

A Marie-Cécile, Katy, et au Docteur Etienne DANTAN,

Merci de la qualité de votre travail sur nos projets communs, merci de m'ouvrir à la discipline statistique.

A mes co-internes de Néphrologie, Anne-Hélène, Awena, Caroline, Clément, Lise-Marie, Lola, Marion, Simon, Vianney, *Merci pour votre amitié, pour les rassemblements de « biblio-néphro ». A Lise-Marie, Merci pour ces trois semestres effectués, comme toujours, avec dynamisme et dans la bonne humeur.*

A mes nombreux autres internes, Benjamin Juliette, François, Dylan, FX, Delphine, sans oublier Alexandra, *merci de m'avoir supportée de longs mois durant.*

A toute l'équipe paramédicale de Néphrologie du CHU de Nantes, de Réanimation Médicale du CHU, *merci de leur collaboration et de leur bonne humeur.*

A mes amis de toujours, Marine, Xavier, Anaïs, Claire, *Merci pour votre amitié qui dure malgré l'éloignement et une vie bien remplie.*

A Lydie, *Merci pour ta joie de vivre inépuisable, ton amitié et ta présence.* **A Maxime,** *Merci pour ton amitié, ton goût pour ma mousse au chocolat et merci d'avoir immortalisé mon goût pour le cathétérisme fémoral sur les murs du CHU.*

A la « Team Luçon », *Merci de m'avoir acceptée comme « valeur ajoutée ».*

A toute ma famille, *ma sœur Clotilde et Xavier, à mon frère Marc, qui me soutiennent et me comprennent malgré la distance.* **A ma nouvelle famille,** *Jocelyne, Jean Pierre, Lionel et Daphnée, Merci de l'affection que vous me témoignez.*

A mes parents, *sans qui je ne serais rien, Merci de votre soutien inconditionnel.*

A Guillaume, *Merci d'avoir accepté de partager ma vie, et de me supporter au quotidien.*

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	2
TABLE DES MATIERES	5
ABREVIATIONS.....	8
1. INTRODUCTION GENERALE.....	10
1.1. EPIDEMIOLOGIE DE L'IRC TERMINALE EN FRANCE.....	10
1.2. EPIDEMIOLOGIE DE LA GREFFE RENALE	12
1.3. SUIVI DE TRANSPLANTATION RENALE.....	13
1.3.1. <i>Amélioration de la survie greffon</i>	<i>13</i>
1.3.2. <i>Suivi après transplantation</i>	<i>15</i>
1.3.3. <i>Biopsies protocolaires</i>	<i>15</i>
2. REJET DE GREFFE.....	16
2.1. REJET CELLULAIRE.....	16
2.1.1. <i>Physiopathologie et diagnostic du rejet aigu cellulaire</i>	<i>16</i>
2.1.2. <i>Lesions « borderlines »</i>	<i>17</i>
2.2. REJET HUMORAL AIGU	17
2.2.1. <i>Physiopathologie</i>	<i>17</i>
2.2.2. <i>Définition du rejet aigu humoral</i>	<i>19</i>
2.3. CLASSIFICATION DE BANFF	20
2.3.1. <i>Nouvelle définition BANFF 2013 du rejet humoral</i>	<i>21</i>
2.4. LESIONS MICRO-VASCULAIRES	22
2.4.1. <i>La glomérulite.....</i>	<i>23</i>
2.4.2. <i>La capillarite péritubulaire (cpt).....</i>	<i>23</i>
2.4.3. <i>Apport des dépôts de C4d peritubulaire</i>	<i>24</i>
2.4.4. <i>Score d'inflammation de la microcirculation.....</i>	<i>25</i>

2.4.5.	<i>Glomérulopathie d'allogreffe</i>	28
2.5.	INFLAMMATION MICROVASCULAIRE EN ABSENCE DE DSA ET DEVENIR DES GREFFONS	29
3.	PATIENTS ET METHODES	31
3.1.	COHORTE DIVAT	31
3.2.	CRITERES D'INCLUSION	31
3.3.	CRITERES DE NON INCLUSION	32
3.4.	VARIABLES ETUDIEES	32
3.4.1.	<i>Variable d'intérêt - Inflammation de la microcirculation rénale</i>	32
3.4.2.	<i>Facteurs de confusion potentiels</i>	32
3.4.3.	<i>Critères de jugement</i>	34
3.5.	ANALYSES STATISTIQUES	34
3.5.1.	<i>Analyse descriptive</i>	34
3.5.2.	<i>Survie patient-greffon</i>	34
3.5.3.	<i>Pente d'évolution de la fonction rénale</i>	35
3.5.4.	<i>Analyse multivariée</i>	35
4.	RESULTATS	37
4.1.	DESCRIPTION DE LA POPULATION	37
4.1.1.	<i>Caractéristiques générales de la population</i>	37
4.1.2.	<i>Caractéristiques de la greffe</i>	38
4.1.3.	<i>Description histologique</i>	42
4.2.	SURVIE PATIENT-GREFFON	45
4.3.	EVOLUTION DE LA FONCTION RENALE	45
4.4.	EVOLUTION DE LA PROTEINURIE	46
4.5.	ANALYSE MULTIVARIEE DE LA PENTE DE DEGRADATION DE LA FONCTION RENALE ENTRE 1 AN ET 3 ANS POST GREFFE	47
4.1.	SCORE D'INFLAMMATION DE LA MICROCIRCULATION > 1	49

5. DISCUSSION.....	50
5.1. POPULATION ETUDIEE.....	50
5.2. ASSOCIATION AUX LESIONS BORDERLINES.....	51
5.3. DEF AUT DE SPECIFICITE POUR LE REJET HUMORAL.....	51
5.4. ALTERATION DE LA FONCTION RENAL A COURT TERME ESTIMEE PAR LE CALCUL DU DFG - MODELE MULTIVARIE.....	54
5.5. DELAIS POST GREFFE DES LESIONS INFRACLINIQUES	55
5.6. GLOMERULOPATHIE D'ALLOGREFFE ET MI	55
5.7. ANTICORPS SPECIFIQUES DU DONNEUR.....	56
5.8. IMPACT DU C4D ET LIEN ENTRE C4D MCI ET SURVIE DU GREFFON	58
5.9. LIMITATION - METHODOLOGIE.....	59
6. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	61
7. ANNEXES	63
7.1. <i>Annexe 1: Protéinurie.....</i>	<i>63</i>
7.2. <i>Annexes 2A : Fonction rénale selon la presence de MI</i>	<i>64</i>
7.3. <i>Annexe 2B : Fonction rénale selon l'intensité du score MI</i>	<i>64</i>
7.4. <i>Annexe 3 : Analyse univariée de la pente de perte de DFG.....</i>	<i>65</i>
7.5. <i>Annexe 4 : Modèle multivarié avec C4d (n=260)</i>	<i>66</i>
8. REFERENCES.....	67

ABRÉVIATIONS

ADCC : Antibody-Dependent Cell-mediated cytotoxicity

AT1R : Angiotensin II receptor type I

Cellules NK : Natural killer

cpt : capillarite péri tubulaire

DFG : Débit de Filtration Glomérulaire

DIVAT : Données informatisées et VALidées en transplantation

DSA : Donor specific antibodies

ELISA : Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

ENDAT : ENDothelial-Associated Transcripts

ERBP : European Renal Best Practice

FI/AT : Fibrose Interstitielle et Atrophie Tubulaire

g : glomérulite

GA : Glomérulopathie d'Allogreffe

HLA : Human Leukocytes Antigen

HD : Haute définition

IRC : Insuffisance Rénale Chronique

LCT : Lymphotoxicité complément-dépendante

MDRD : Modification of Diet in Renal Disease

MFI : Mean Fluorescence Intensity

MI : Inflammation de la Microcirculation

MICA : MHC class I Chain-related gene A

MMF : Mycophénolate Mofétil

MPA : Mycophenolic Acid

PRA : Panel-Reactive Antibodies

REIN : Réseau Epidémiologique Information en Néphrologie

UNOS : United Network for Organ Sharing

1. INTRODUCTION GÉNÉRALE

1.1. EPIDEMIOLOGIE DE L'IRC TERMINALE EN FRANCE

La maladie rénale chronique constitue un problème de santé publique majeur, autant pour sa morbi-mortalité importante que pour son coût de santé publique. La prévalence de l'insuffisance rénale chronique (IRC) terminale est en constante augmentation ces dernières années. Dans le dernier rapport du registre REIN (Réseau Epidémiologique Information en Néphrologie) de 2012, 73 491 patients ont un traitement de suppléance rénale en France, soit 1 127 patients par million d'habitants. Cela correspond à une augmentation régulière de +4% par an. 634 patients par million d'habitants (+2% par an) sont traités par dialyse et 499 patients par million d'habitants (+4% par an) ont une greffe rénale fonctionnelle. Cette augmentation de prévalence s'explique en raison du vieillissement de la population, et de l'augmentation de l'incidence du diabète et de l'hypertension artérielle. L'âge des nouveaux patients débutant la dialyse augmente régulièrement. L'âge médian est de 70,4 ans en 2012. Les patients de 75 ans et plus sont de plus en plus nombreux à débiter la dialyse.

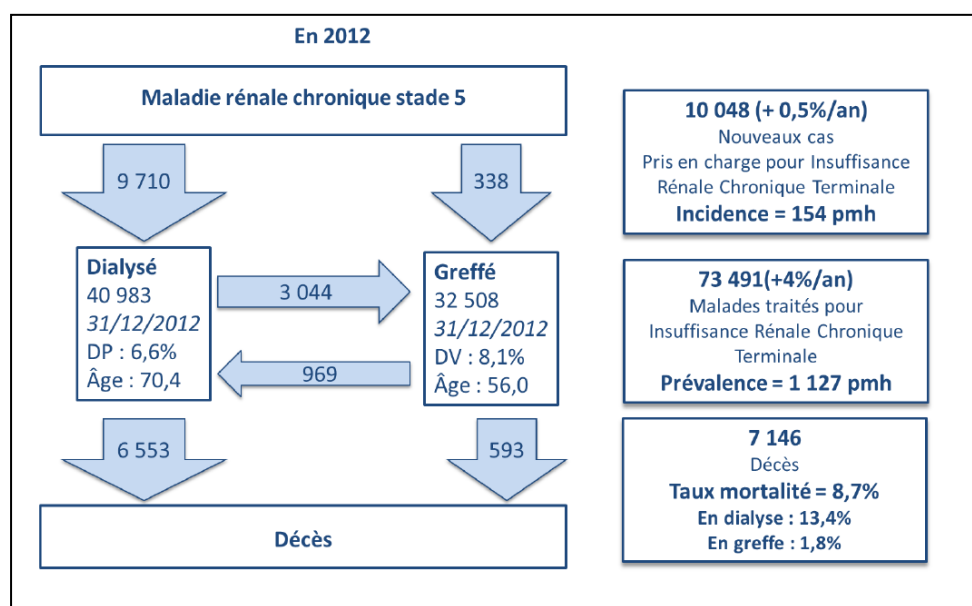


Figure 1 : Epidémiologie de l' IRC terminale, Registre REIN 2012.

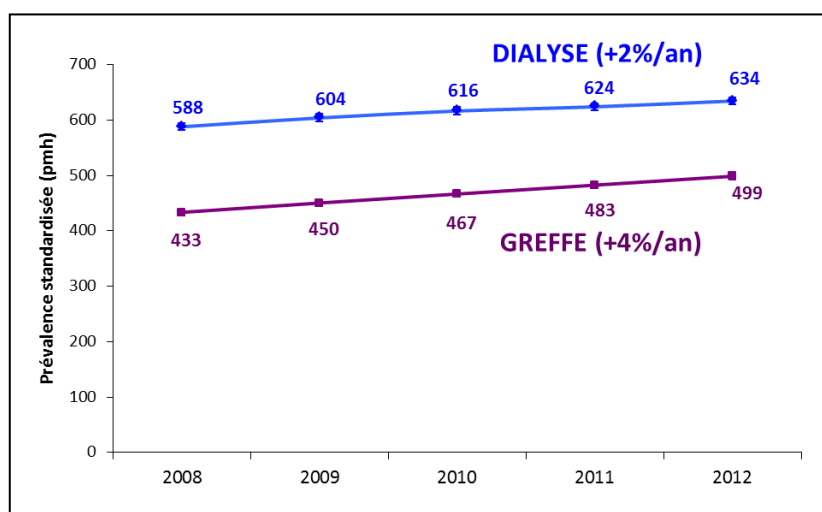


Figure 2 : Prévalence Standardisée de l'IRC terminale issue du Registre REIN 2012.

Une tendance à la stabilisation de l'incidence de l'IRC terminale semble cependant se confirmer. Elle est d'environ 154 par million d'habitants et par an en France (+0,5% par an). 10 048 patients ont en effet débuté un traitement de suppléance en 2012, dont 338 greffes préemptives. L'incidence de l'IRC terminale est 2 à 3 fois plus fréquente chez l'homme que chez la femme.

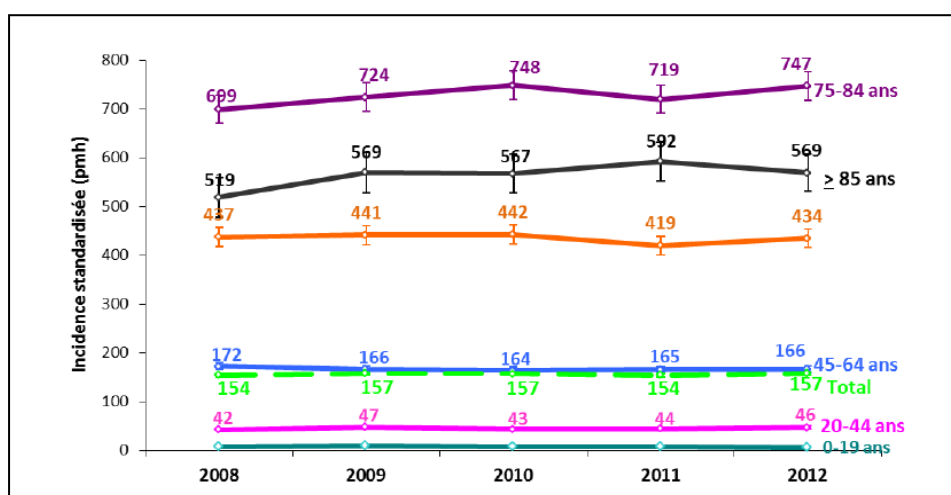


Figure 3 : Incidence standardisée de l'IRC terminale traitée selon les classes d'âge.

1.2. ÉPIDÉMIOLOGIE DE LA GREFFE RÉNALE

Depuis les premières transplantations rénales réalisées en 1952 à Boston et à l'hôpital Necker à Paris¹, cette intervention est devenue le traitement de choix de l'insuffisance rénale chronique terminale. La transplantation rénale apporte une meilleure qualité de vie, une augmentation de la survie et une économie de santé en comparaison à la dialyse²⁻⁴. En France, en 2012, la mortalité des patients en IRC terminale est de 8,7%. En dialyse, elle est de 13,4% et en transplantation de 1,8% par an. Si on compare une même tranche d'âge, entre 60 et 69 ans, pour 1000 patients dialysés, 132 sont décédés ; et pour 1000 patients du même âge, porteurs d'un greffon rénal fonctionnel, 27 sont décédés (registre REIN 2012). La prévalence de l'IRC traitée par greffe était de 32 508 au 31 décembre 2012, soit 499 porteurs d'un greffon rénal fonctionnel par million d'habitants.

	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Malades restant en attente au 1er janvier de chaque année	5942	6157	6481	6869	7585	8436	8942
Malades en attente au 1er janvier et en CIT	794	1085	1500	1832	2260	2654	3053
Part des malades en CIT parmi les malades en attente au 1er janvier	13%	18%	23%	27%	30%	31%	34%
Nouveaux inscrits dans l'année	3299	3546	3726	3898	4132	3884	
Décédés en attente dans l'année	162	152	218	206	212	200	
Sortis de liste d'attente	191	158	183	150	177	202	
Greffes	2731	2912	2937	2826	2892	2976	
dont greffes avec donneur vivant	247	236	222	223	283	302	
dont greffes avec donneur décédé après arrêt cardiaque	1	43	52	70	79	65	
Greffes (pmh)	44,0	46,1	46,2	44,2	44,7	45,7	
pmh : par million d'habitants CIT : contre indication temporaire							

Tableau 1 : Evolution de la liste d'attente de greffe, Agence de la Biomédecine.

La prévalence de l'IRC traitée par greffe est en constante augmentation, elle était de 32 508 patients au 31 décembre 2012. Cependant, en 2011, pour 3884 nouveaux patients inscrits sur liste attente de transplantation, seulement 2976 patients ont reçu une greffe rénale, dont 302 à partir de donneurs vivants et 65 issues de donneurs décédés après arrêt cardiaque. Le nombre de patients restant en attente de greffe augmente ainsi de plus en plus chaque année. En 2012, 8942 patients étaient en attente de greffe. Trois régions en France ont une prévalence de greffe supérieure au taux national : Île-de-France, Rhône-Alpes et Pays de la Loire, Figure 4.

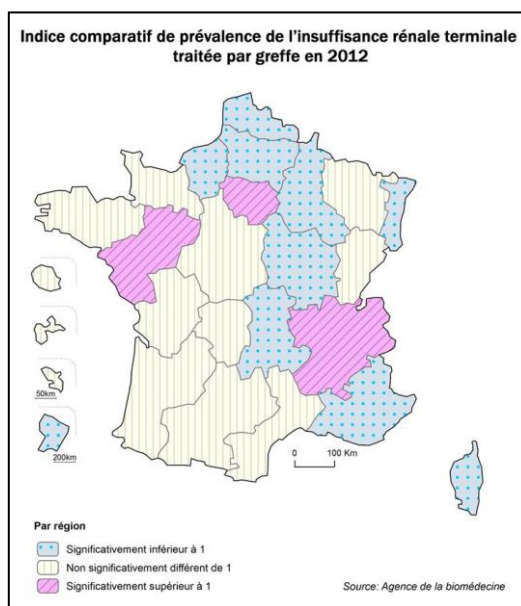


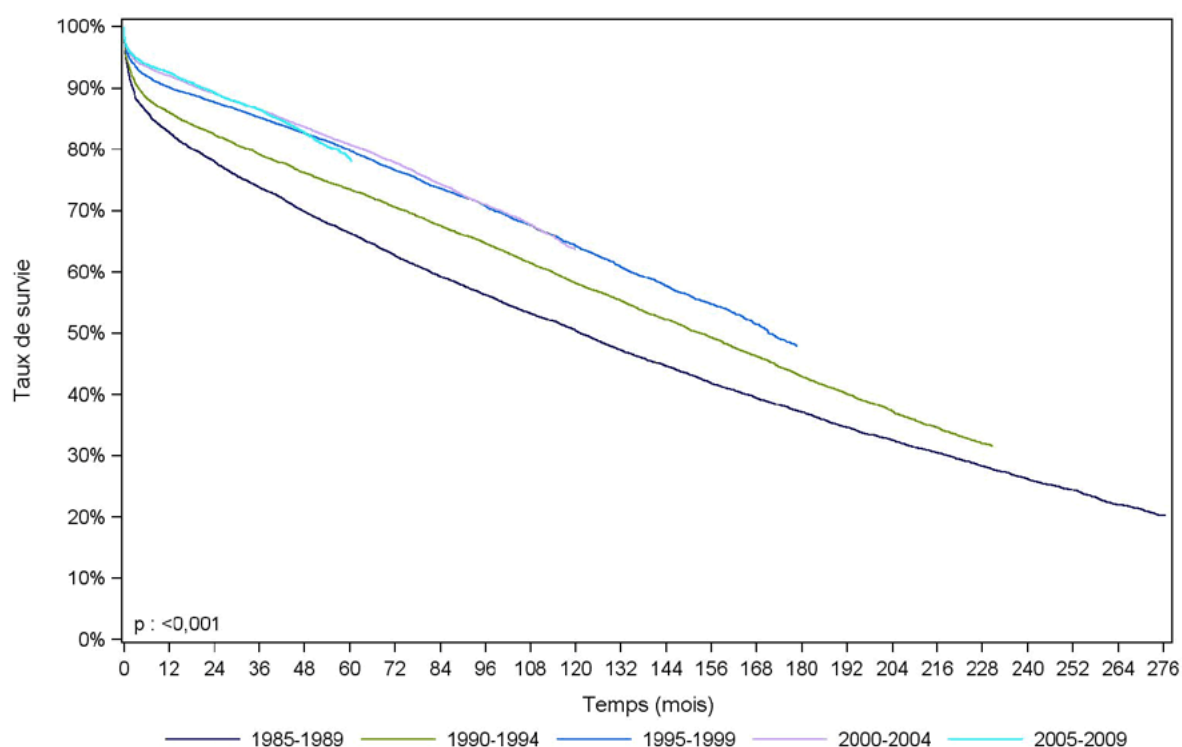
Figure 4 : Prévalence de l'IRC terminale traitée par la greffe au 31/12/2012, REIN 2012.

Par ailleurs, l'âge médian de ces patients à la transplantation est de 50,8 en 2011 (Agence de Biomédecine). Enfin, les cinq principales causes d'IRC conduisant à la greffe se modifient peu. Elles sont actuellement : les glomérulonéphrites chroniques (24%), la polykystose rénale (16%), les néphropathies interstitielles chroniques (11%), le diabète (11%), la néphroangiosclérose (8%). Dans 17% des cas l'étiologie reste inconnue.

1.3. SUIVI DE TRANSPLANTATION RÉNALE

1.3.1. Amélioration de la survie greffon

Selon le rapport de l'Agence de la Biomédecine, la survie des greffons à 10 ans est de 63,5% et passe sous la barre des 50% à 15 ans. La comparaison des courbes de survie des greffons montre une amélioration significative entre la cohorte historique de 1985-1989 et la cohorte la plus récente de 2005-2009, avec des survies à 5 ans respectivement de 66,4% et 78,5%. La médiane de survie est passée de 10 ans en 1985 à plus de 14 ans en 1999.



Période de greffe	N	Survie à 1 mois	Survie à 1 an	Survie à 5 ans	Survie à 10 ans	Survie à 15 ans	Médiane de survie (mois)
1985 - 1989	7850	93,1% [92,5% - 93,6%]	82,7% [81,8% - 83,5%]	66,4% [65,3% - 67,4%]	50,4% [49,2% - 51,5%]	37,1% [36,0% - 38,2%]	121,3 [117,1 - 125,6]
Nombre de sujets à risque*		7077	6270	4977	3724	2527	
1990 - 1994	9105	94,1% [93,6% - 94,6%]	85,9% [85,2% - 86,6%]	73,5% [72,6% - 74,4%]	58,1% [57,0% - 59,1%]	42,9% [41,8% - 43,9%]	153,0 [148,8 - 157,4]
Nombre de sujets à risque*		8475	7708	6533	4897	3159	
1995 - 1999	8695	95,5% [95,1% - 95,9%]	90,1% [89,4% - 90,7%]	79,8% [78,9% - 80,6%]	64,2% [63,1% - 65,2%]	NO	171,1 [168,7 - 176,0]
Nombre de sujets à risque*		8299	7821	6862	5045	274	
2000 - 2004	10748	96,2% [95,8% - 96,5%]	92,0% [91,4% - 92,5%]	80,7% [80,0% - 81,5%]	NO	NO	NO
Nombre de sujets à risque*		10325	9860	8270	470	0	
2005 - 2009	13978	96,4% [96,1% - 96,7%]	92,5% [92,0% - 92,9%]	78,5% [77,3% - 79,6%]	NO	NO	NO
Nombre de sujets à risque*		13159	11383	870	0	0	

Figure 5 : Survie du greffon rénal selon la période de greffe, Agence de la biomédecine.

Ces progrès sont dus à une amélioration remarquablement de la survie à un an de greffe, passant de 82,7 à 92,5%, en 20 ans d'évolution de la prise en charge des greffés. Cet excellent résultat à court terme s'explique par une nette diminution de l'incidence des rejets aigus⁵, qui sont un facteur de risque majeur de perte du greffon rénal, liée à la modification des traitements immunosuppresseurs⁶. Il s'explique également par un traitement précoce et efficace des rejets aigus cellulaires. Cependant, après la première année, la pente de perte de greffon n'a pas changé en 20 ans. La survie à long terme des greffons reste sensiblement

altérée par une dysfonction chronique des greffons, liée à des lésions de rejets humoraux, et des mécanismes non immunologiques^{7,8}.

1.3.2. Suivi après transplantation

Les suites de la transplantation rénale font l'objet d'un suivi clinico-biologique rapproché, formalisé par les dernières recommandations françaises de la Haute Autorité de Santé en 2007 et Européenne de l'ERBP (European Renal Best Practice) en 2013, www.european-renal-best-practice.org. Ce suivi a pour objectif le diagnostic et la prise en charge précoce de complications intercurrentes, infections et rejets de greffe notamment. Les rejets aigus se manifestent généralement par une dégradation de la fonction du greffon ou une protéinurie qui doivent conduire à la réalisation d'une biopsie du greffon. Ils surviennent principalement au cours de la première année de la transplantation.

1.3.3. Biopsies protocolaires

Rush *et al.* ont décrits en 1994 des lésions histologiques du greffon mises en évidence sur des biopsies protocolaires, survenant en dehors de toute dégradation de la fonction rénale⁹. Ces rejets « infracliniques » sont particulièrement fréquents chez des patients à haut risque immunologique, comme les greffes ABO-incompatibles¹⁰, ou les patients désensibilisés^{11,12}. Ils contribuent à l'apparition de lésions chroniques de glomérulopathie d'allogreffe et de fibrose interstitielle du greffon et grèvent ainsi le pronostic à long terme de la greffe^{11,13}. De nombreux centres de transplantation rénale réalisent des biopsies protocolaires dites systématiques, à 3, 6 ou 12 mois de la greffe. Le but poursuivi est de repérer des lésions infra-cliniques, notamment des lésions de rejet ou de toxicité, afin d'adapter précocement le traitement immunosuppresseur pour maintenir une survie du greffon optimale^{14,15}. Il existe cependant un risque de sur-diagnostic et de sur-traitement, par la mise en évidence de lésions asymptomatiques dont on ne connaît actuellement pas la « pertinence » clinique¹⁶.

2. REJET DE GREFFE

Le rejet aigu nécessite une allo-immunisation et survient avec un délai de 5 jours à plusieurs mois après la transplantation¹⁷. Actuellement, grâce aux traitements immunosuppresseurs, les épisodes de rejet aigu surviennent en moyenne dans 15 % des transplantations¹⁷. Le rejet de greffe rénale peut être divisé, de façon schématique, en deux grands types impliquant des mécanismes différents. Le rejet cellulaire d'une part, implique principalement une réaction cellulaire lymphocytaire T, et le rejet humoral d'autre part est en lien avec l'apparition d'anticorps spécifiques du donneur. Ces différentes classes de rejets posent des problèmes diagnostiques et thérapeutiques différents, et sont parfois intriqués.

2.1. REJET CELLULAIRE

2.1.1. Physiopathologie et diagnostic du rejet aigu cellulaire

Dans les suites de la transplantation, une reconnaissance des antigènes allogéniques du donneur par les lymphocytes T du receveur se produit. Elle se fait de manière directe ou indirecte via la présentation des peptides allogéniques par les cellules dendritiques issues du greffon et du receveur. Les lymphocytes T activés prolifèrent et migrent vers le greffon, attirés par les molécules d'adhésion exprimées par l'endothélium inflammatoire. L'infiltration interstitielle massive du greffon, par des cellules mononuclées inflammatoires (lymphocytes T activés, macrophages et polynucléaires), induit des dommages conduisant, en l'absence de traitement, à la perte du greffon. Le rejet cellulaire fait intervenir une réaction lymphocytaire T de type Th1. Le diagnostic du rejet cellulaire repose actuellement sur la biopsie rénale, réalisée généralement dans un contexte de dégradation de fonction du greffon ou de reprise de fonction retardée du greffon. Il se caractérise par des lésions d'infiltrat inflammatoire interstitiel et tubulaire¹⁸.

2.1.2. Lésions de rejet « *borderline* »

Lorsque les changements histologiques interstitiels et tubulaires sont insuffisamment sévères pour être définir du rejet aigu cellulaire, ils sont décrits comme suspect de rejet ou « *borderline* ». Ces lésions sont fréquemment mises en évidence au cours de la première année^{9,15}. Elles ont une signification équivoque, correspondant parfois au niveau moléculaire effectivement à un rejet cellulaire, ou s'apparentant à l'absence de rejet du greffon¹⁹. L'indication de traitement des lésions de rejet dit « *borderline* », en particulier lorsqu'il est infraclinique, n'est pas consensuel^{16,20}.

2.2. REJET HUMORAL AIGU

2.2.1. *Physiopathologie*

Bien que possiblement associés, on oppose le rejet cellulaire au rejet humoral. Le rejet humoral est un processus dynamique dû à la présence ou à l'apparition d'anticorps dirigés spécifiquement contre des déterminants antigéniques du donneur (DSA). Ils concernent classiquement les antigènes HLA (Human Leukocyte Antigen) du complexe majeur d'histocompatibilité²¹, mais également les antigènes apparentés au HLA comme MICA et MICB (MHC class I-related molecules A and B)²², ou des antigènes endothéliaux non HLA²³. Ces DSA se lient aux antigènes cibles de l'endothélium du greffon²⁴. Ils activent la voie classique du complément entraînant, le recrutement de polynucléaires neutrophiles par le C5a (anaphylatoxine) et la formation du complexe d'attaque membranaire. Ils peuvent également léser la cellule endothéliale par une cytotoxicité dépendante des anticorps médiée par les cellules (ADCC), notamment par les cellules NK²⁵.

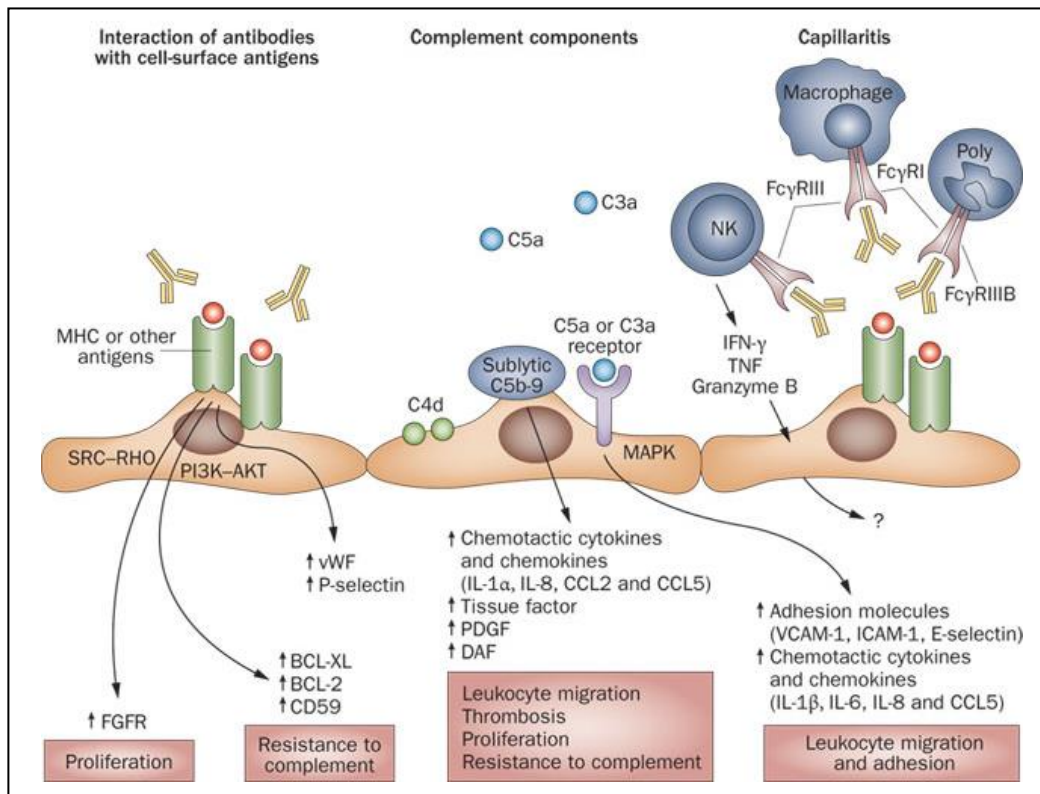


Figure 6: Mécanismes des lésions endothéliales secondaires aux DSA ²⁵.

Les anticorps anti-HLA spécifiques du donneur peuvent être présents avant la greffe suite à une immunisation ancienne, liée à une transfusion, une greffe antérieure ou une grossesse. Ils peuvent également apparaître après la transplantation. La formation de DSA de novo est constatée chez environ 12 à 30% des greffés en fonction du risque immunologique²⁶⁻²⁸. Ils apparaissent avec un délai de médian variant entre 3,8 mois ²⁸ et 4,6 années ^{26,27} post transplantation. Leur développement semble être corrélé aux incompatibilités de classe II, notamment HLA-DR et à l'observance des patients²⁶.

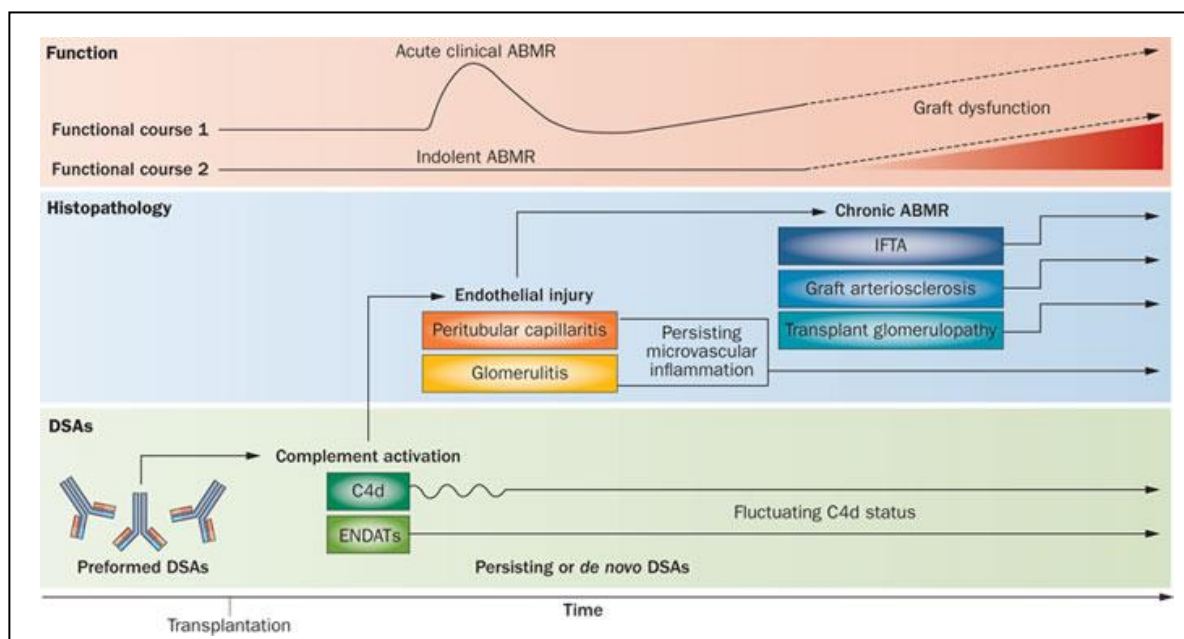


Figure 7 : Histoire naturelle des lésions du greffon médiée par les anticorps ²⁴.

Le rejet aigu humoral peut survenir entre la première et la troisième semaine après la transplantation précocement mais également de façon plus tardive selon la population étudiée et des types de DSA, préexistants à la transplantation ou apparus de novo²⁹. Les DSA de novo sont de plus mauvais pronostic pour le greffon²⁹. Ils donnent des formes plus tardives de rejet avec des lésions chroniques et une présentation fréquemment indolente ou infra clinique^{8,30}. Les DSA de novo sont plus fréquemment des DSA anti-HLA de classe II ou une association de DSA anti-classe I et anti-classe II.

2.2.2. Définition du rejet aigu humoral

Le diagnostic de rejet aigu humoral est évoqué en présence d'une insuffisance rénale aiguë ou d'une protéinurie. Défini en 2001, le rejet humoral se caractérise par la présence de lésions tissulaires rénales aiguës, associées à la présence d'anticorps circulants spécifiques du donneur³¹. Les lésions histologiques typiques qui définissent le rejet humoral aigu, sont la nécrose tubulaire aiguë, l'atteinte de la microcirculation rénale correspondant à la glomérulite et à la capillarite péri-tubulaire, et l'atteinte artérielle parfois sévère pouvant aller jusqu'à la

nécrose transmurale^{32,33}. L'intensité des lésions vasculaires peut être responsable d'un tableau de micro angiopathie thrombotique. Par ailleurs la biopsie du greffon peut révéler des dépôts C4d, produits de dégradation du complément, dans les capillaires péri-tubulaires, témoins de l'activation du complément par les anticorps.

2.3. CLASSIFICATION DE BANFF

La définition des différents types de rejets est formalisée par la classification de Banff. En 1991 dans la ville de Banff au Canada, la réunion d'un comité d'experts internationaux a permis de créer une classification semi quantitative permettant d'harmoniser la lecture des biopsies et de définir des scores de lésions élémentaires définissant les différents types de rejet de greffe rénale³⁴. La classification de référence, rapportée par Racusen¹⁸, fût établie en 1997. Depuis, elle est continuellement améliorée lors de conférences internationales biennales en fonction des avancées de la recherche clinique, anatomo-pathologique^{31-33,35} jusqu'à la dernière édition en 2013, et l'introduction de données transcriptomiques³⁶.

La classification de Banff définit l'analyse des lésions rénales de la façon suivante :

- les lésions à médiation humorales incluant le dépôt de C4d isolé, le rejet aigu et le rejet chronique actif
- le rejet à médiation cellulaire, aigu ou chronique actif
- les lésions dites « borderline » suspectes de rejet cellulaire
- les lésions de Fibrose Interstitielle et Atrophie Tubulaire (FI/AT)
- les autres lésions, sans lien avec un rejet de greffe, incluant notamment la toxicité des anticalcineurines, les infections à BK virus ou les pyélonéphrites bactériennes, les récurrences de maladies initiales sur le greffon etc.

Cette classification repose sur les lésions histologiques élémentaires mises en évidence sur les biopsies de transplants rénaux. Ces lésions élémentaires peuvent être aiguës ou chroniques (c) et être localisées dans toutes les structures rénales :

- l'interstitium (infiltrat interstitiel « i », fibrose interstitielle « ci »),
- des tubules (tubulite « t », atrophie tubulaire « ct »),
- des glomérules (glomérulite « g », glomérulopathie d'allogreffe « cg », hyperplasie mésangiale « mm »),
- des vaisseaux de petits et moyens calibres (artérite « v », hyalinose artériolaire « ah », capillarite péri tubulaire « cpt », endartérite fibreuse ou fibro-proliférative « cv »).

Les lésions élémentaires sont évaluées de façon semi-quantitative par un score pouvant aller de 0 à 3, selon le degré d'atteinte des structures concernées.

2.3.1. Nouvelle définition BANFF 2013 du rejet humoral

Devant les avancées récentes concernant le rejet humoral, la 12^{ème} conférence de Banff ³⁶ en août 2013 a modifié les critères diagnostiques du rejet humoral en prenant en compte la faible sensibilité du C4d, et en reconnaissant le rejet humoral C4d négatif. Elle définit des seuils d'inflammation de la microcirculation modérée en absence de C4d (g+cpt). Elle inclut les lésions d'artérite intinale « v1 » et « v2 » comme des lésions endothéliales du rejet humoral.

Le diagnostic consensuel de rejet aigu humoral nécessite les trois critères suivants :

- la présence d'anticorps circulants spécifiques du donneur,
- des lésions histologiques aiguës parmi lesquelles l'inflammation de la microcirculation (g >0 ou cpt>0), les lésions d'artérite (v>0), la microangiopathie thrombotique ou la nécrose tubulaire,
- des arguments pour une interaction récente entre les anticorps et l'endothélium vasculaire incluant les dépôts de C4d dans les capillaires péri tubulaires, ou un score g+cpt >1, ou enfin une augmentation tissulaire des transcrits indiquant une activation et des lésions endothéliales (ENDAT).

Du fait de la spécificité imparfaite des lésions de capillarite, en présence d'autres lésions histologiques évoquant un rejet borderline ou cellulaire, ou une infection, il est nécessaire qu'il y ait au moins une glomérulite classée g1 en absence de C4d.

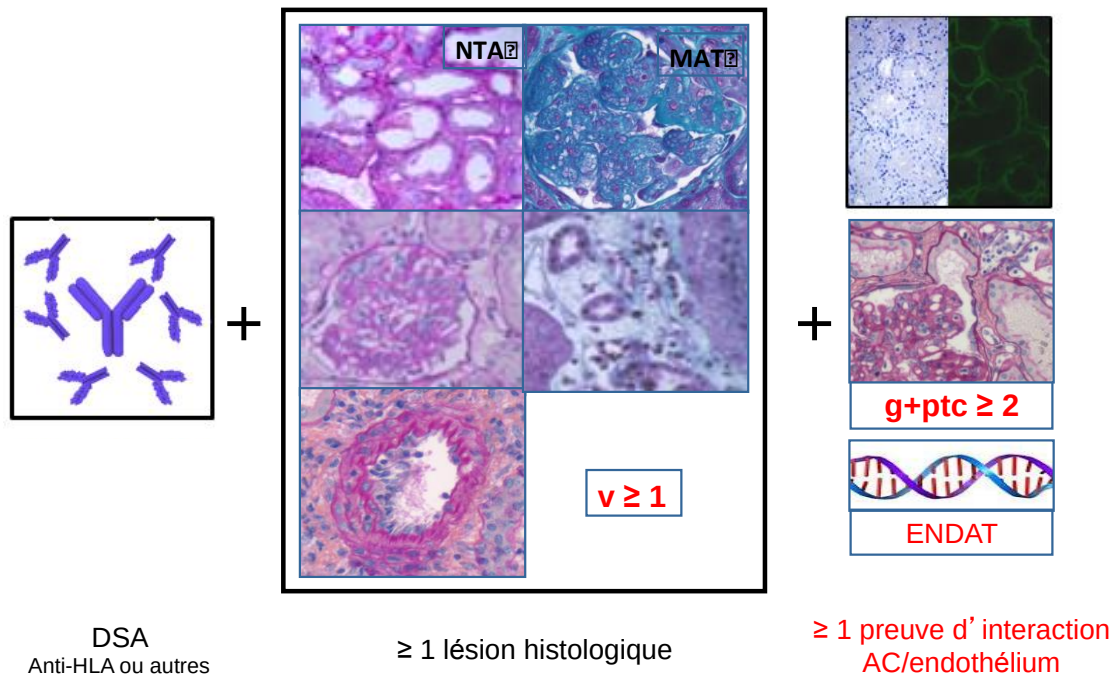


Figure 8 : Définition du rejet humoral Banff 2013, K. Renaudin SNO 2014^{36,37}.

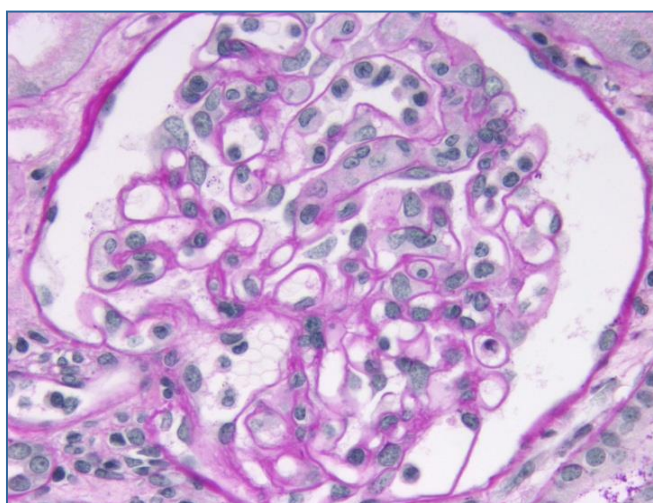
2.4. LESIONS MICRO-VASCULAIRES

Au cours du rejet humoral, une agression aiguë de l'endothélium microvasculaire se manifeste sur la biopsie du greffon, par une inflammation de la microcirculation rénale, glomérulite et capillarite péri-tubulaire. Lorsque la voie classique du complément est en jeu, on observe des dépôts de C4d dans les capillaires péri-tubulaires rénaux. Les cellules mononuclées mise en évidence dans la microcirculation rénale peuvent être des lymphocytes, des monocytes-macrophages, et des cellules NK^{38,39}. Ces cellules sont recrutées au cours du rejet humoral par les anticorps via l'activation de la voie classique du complément et la libération de C5a, ou par leur récepteur du fragment Fc, qui se lie aux anticorps présents sur les cellules de l'endothélium microvasculaire (ADCC). Enfin, ces lésions aiguës peuvent donner lieu à des lésions histologiques chroniques de la glomérulopathie d'allogreffe.

2.4.1. La glomérulite

La première manifestation de l'agression aiguë de l'endothélium microvasculaire rénal est la glomérulite, codifiée par la Classification de Banff 1997¹⁸. Ces lésions appartiennent au spectre des lésions histologiques du rejet humoral. Elles correspondent à un infiltrat de cellules mononuclées et un élargissement des cellules endothéliales des capillaires glomérulaires. L'intensité des lésions est gradée de 0 à 3 selon le pourcentage de glomérules impliqués : g0 pas de glomérulite, g1 glomérulite dans <25% des glomérules, g2 glomérulite dans 26 à 50% des glomérules et g3 glomérulite dans >50% des glomérules. Ces lésions de glomérulite, dans le cadre du rejet humoral, sont associées au pronostic du greffon indépendamment d'autres marqueurs comme le C4d⁴⁰.

Figure 9 : Glomérulite
Score « g »
% de glomérules atteints
g0 : absence
g1 : < 25%
g2 : 25 à 75%
g3 : >75%



2.4.2. La capillarite péritubulaire (cpt)

La seconde manifestation de l'atteinte de la microcirculation rénale est la capillarite péritubulaire. Elle est définie par la classification de Banff 2007. La capillarite correspond à la présence d'éléments inflammatoires dans la lumière des capillaires péritubulaires corticaux, (en évitant d'analyser les zones éventuelles de pyélonéphrite, de fibrose, ou d'infarctus)^{32,40}. L'intensité des lésions est gradée de 0 à 3 selon le nombre de cellules inflammatoires par section de capillaire. Il peut être précisé par la dispersion focale, ou diffuse.

Figure 10 : Capillarite

Score «cpt»

cpt0 : absence ou <10% des cpt

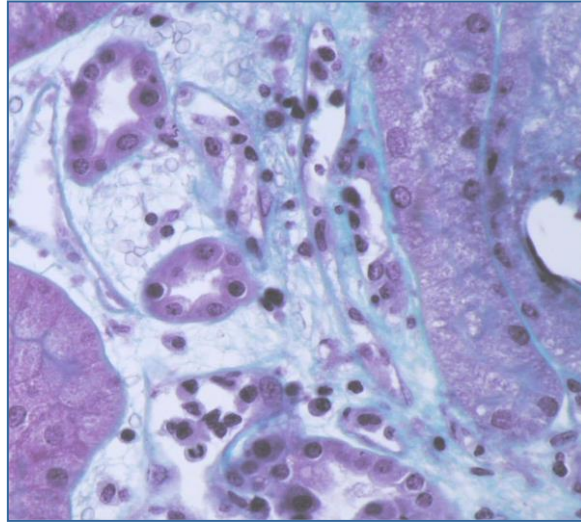
cpt 1 : 3 à 4 éléments/capillaire

cpt 2 : 5 à 10 éléments/capillaire

cpt 3 : >10 éléments/capillaire

Focal $\leq 50\%$

Diffus > 50% des cpt



Ces lésions microvasculaires témoignent de l'agression de l'endothélium. Elles sont sensibles mais manquent de spécificité pour le diagnostic du rejet humoral.

2.4.3. Apport des dépôts de C4d péritubulaire

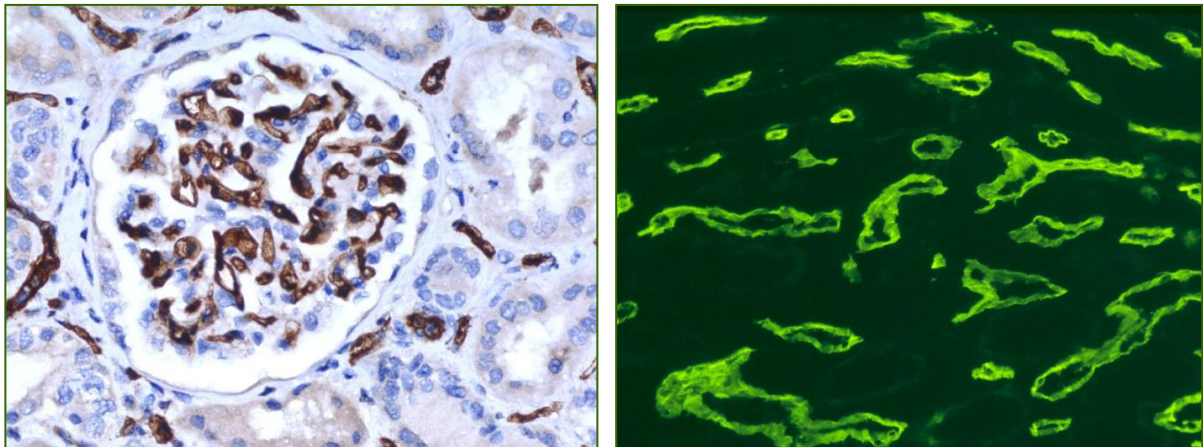


Figure 11 : Score C4d en Immunohistochimie à gauche et Immunofluorescence à droite

0 : **négatif** 0% de la biopsie,

1 : **minime** 1 à 10%,

2 : **focal** 10 à 50%,

3 : **diffus** >50%.

Le mécanisme d'action des anticorps dans le rejet humoral a pu être mieux appréhendé depuis la description, en 1991, par Feucht *et al.*⁴², de dépôts dans les capillaires péritubulaires de C4d, produit de clivage inactif de la voie classique du complément. Il témoigne de l'action

directe des anticorps sur la cellule par activation du complément. La bonne spécificité des dépôts C4d en a fait un critère de la définition du rejet aigu humoral, en plus des lésions histologiques endothéliales³².

Cependant, Loupy *et al.* ont, par la suite, mis en évidence la faible sensibilité des dépôts de C4d, en particulier chez les patients immunisés avec des DSA en pré transplantation^{11,43}. D'authentiques rejets humoraux sont décrits en absence de dépôts de C4d et évoluent vers le rejet chronique du greffon^{17,37,44,45}. Ce défaut de sensibilité du C4d s'explique en partie par le caractère dynamique du processus de rejet humoral qui entraîne une fluctuation au cours du temps des dépôts de compléments dans le rein. Il s'explique également par les difficultés techniques de ces tests réalisés par immunohistochimie ou par immunofluorescence (Figure 11), et par la possibilité d'un rejet humoral agissant de manière indépendante du complément, notamment par l'ADCC. Ainsi, dans la nouvelle définition du rejet humoral de la dernière conférence de Banff, le C4d contribue au diagnostic mais n'est pas retenu comme indispensable au diagnostic du rejet humoral³⁶.

Par ailleurs, le C4d n'est pas parfaitement spécifique du rejet humoral. L'entité « C4d sans évidence de rejet » est ajoutée à la classification de Banff en 2013³⁶. Elle répond à la définition suivante : C4d>0 en IHC ou côté à 2 et 3 en IFI, en absence de lésions aiguës ou chroniques vasculaires, ou de rejet cellulaire ou borderline.

2.4.4. Score d'inflammation de la microcirculation

La présence de lésions de glomérulite et de capillarite sur les biopsies sont hautement corrélées³⁹. Sis *et al.*³⁹ ont associé ces deux types de lésions microvasculaires et défini un score d'inflammation de la microcirculation comme la somme de la glomérulite et de la capillarite « g-score + cpt-score » qui varie de 0 à 6.

L'inflammation de la microcirculation était associée à la présence de DSA circulant : 67% des patients avec un score $g + ptc > 0$ avaient des DSA contre, 20% en absence d'inflammation de la microcirculation. L'incidence des DSA augmentait progressivement avec le score d'inflammation de la microcirculation dès qu'il est égal à 1 ou plus, Figure 12.

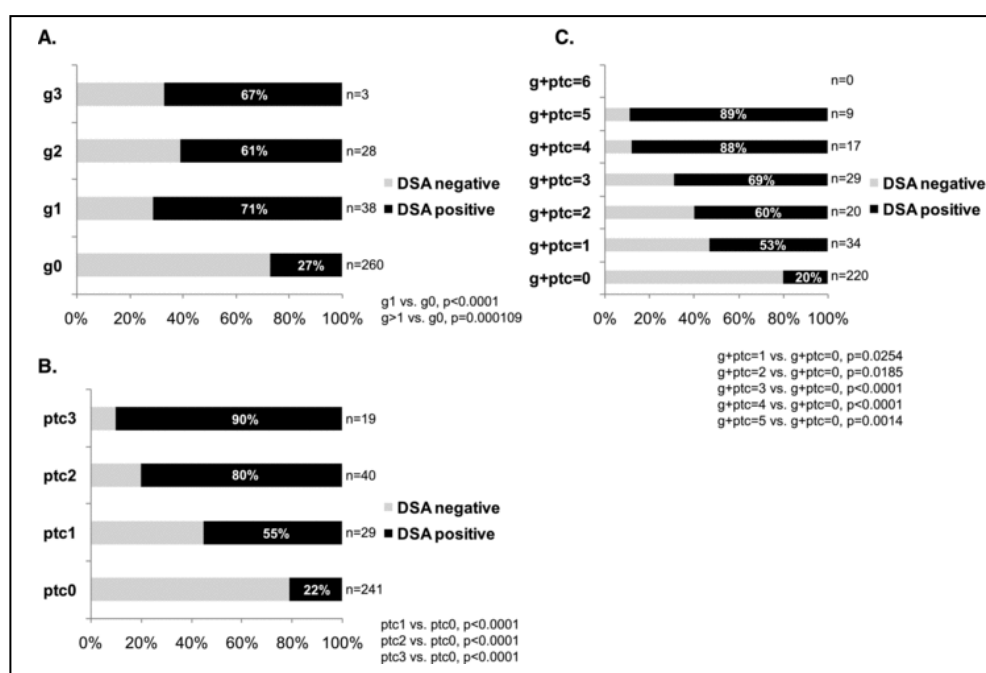


Figure 12 : Fréquence de la présence de DSA en fonction des lésions d'inflammation de la microcirculation sur les biopsies de greffon (n=109) : (A) glomérulite, capillarite péricapillaire (B) ou la somme $g + ptc$ (C) ³⁹.

Les lésions d'inflammation de la microcirculation ne sont pas parfaitement spécifiques du rejet humoral. Elles pouvaient être retrouvées associées à du rejet cellulaire, de la nécrose tubulaire ou de la glomérulonéphrite. La construction d'un arbre de prédiction des DSA montrait que le score d'inflammation de la microcirculation était le meilleur prédicteur de la présence de DSA de novo, avant le délai post-transplantation et les dépôts C4d, Figure 13. Pour les biopsies tardives, ce score est fortement prédictif de la présence de DSA indépendamment du C4d, qui n'apportait pas d'information supplémentaire.

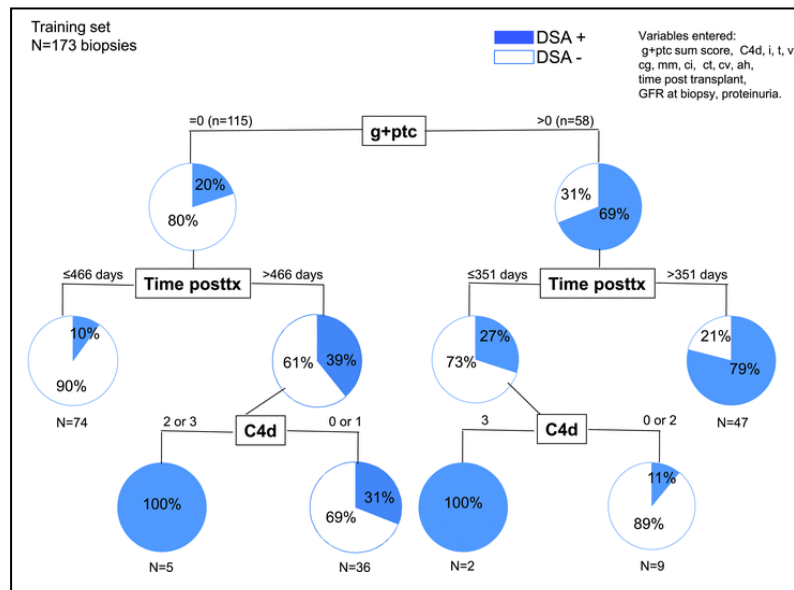


Figure 13 : Arbre de prédiction de la présence de DSA³⁹.

a. Corrélation avec la survie

Ce score d'inflammation de la microcirculation est également associé à la survie du greffon. De Kort *et al.* ont montré que le score d'inflammation de la microcirculation était associé, chez 58 patients avec un risque immunologique standard et ayant développé des DSA anti-HLA de novo en post transplantation à la survie du greffon. Un score à 3 et plus entraînait un sur-risque de perte de greffon multiplié par 21 (95% CI 2.5-180.0, P=0.005) indépendamment du C4d²⁸. L'inflammation de la microcirculation permettait de prédire la perte du greffon avec une meilleure significativité que le C4d. Ce score apparaît être corrélé à la survie des greffons globalement, mais chaque lésion de glomérulite et de capillarite est également associée une moindre survie des greffons^{28,39}.

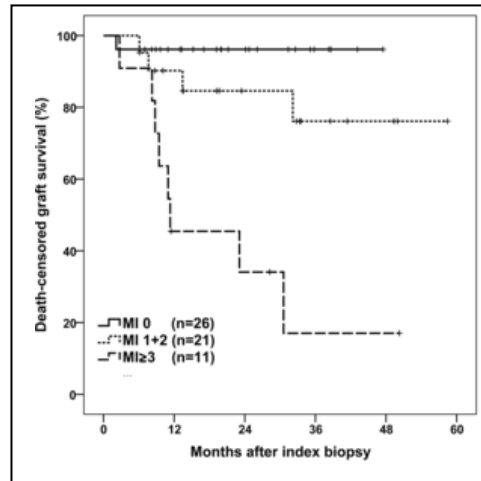


Figure 14 : Courbes de survie des greffons en fonction du score d'inflammation de la microcirculation sur une biopsie pour cause avec des anticorps anti HLA spécifique du donneur apparus de novo²⁸.

2.4.5. Glomérulopathie d'allogreffe

Les lésions de glomérulopathie d'allogreffe (GA) témoignent de l'atteinte durable du glomérule rénal. Elles correspondent au pourcentage de doubles contours dans le glomérule. Elles sont associées à une moindre survie du greffon à long terme.⁴⁶ Les lésions d'inflammation de la microcirculation et en particulier la glomérulite sont un facteur de risque de GA et de fibrose interstitielle et atrophie tubulaire (FI/AT), chez des patients ayant des DSA en pré transplantation, desensibilisé⁴⁷. La GA peut se développer, comme la glomérulite en absence de dépôts C4d⁴⁸, témoignant d'un mécanisme indépendant du complément. Dans l'étude de Bagnasco *et al*⁴⁷, la majorité des patients avec de la glomérulite développait des lésions chroniques ; et, la glomérulopathie d'allogreffe était précédée dans 90% des cas de glomérulite. Il s'écoulait en moyenne 15 mois entre la découverte de la glomérulite et l'apparition de la glomérulopathie d'allogreffe. Ce délai ne semblait pas être modifié par la présence de dépôt de C4d.

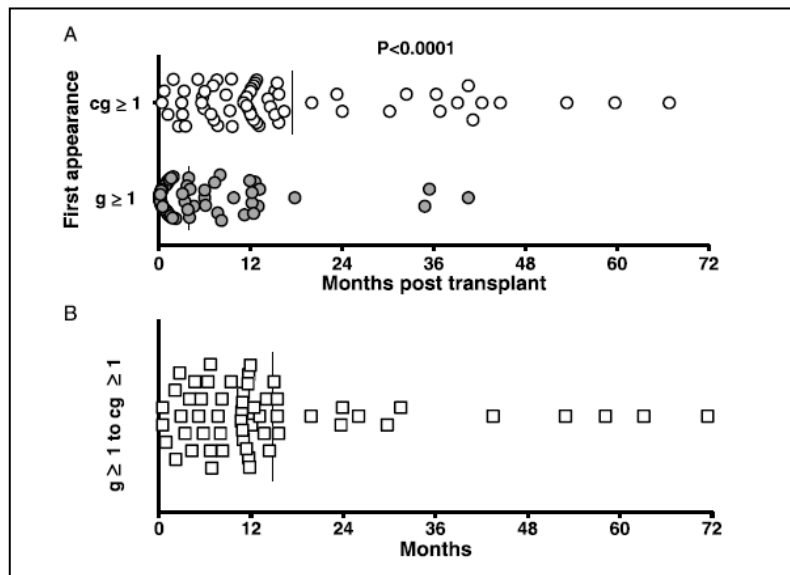


Figure 15 : Délai entre les lésions de glomérulite « g » et l'apparition de glomérulopathie d'allogreffe « cg »⁴⁷.

2.5. INFLAMMATION MICROVASCULAIRE EN ABSENCE DE DSA ET DEVENIR DES GREFFONS

Ces lésions de glomérulite et capillarite péri-tubulaire sont des éléments essentiels de l'analyse anatomo-pathologique du greffon rénal. Lorsqu'elles sont associées à la présence d'anticorps spécifiques du donneur (DSA), ces lésions sont une composante du rejet aigu humoral. Prises isolément, elles permettent de prédire la présence de DSA et sont corrélées de façon péjorative au pronostic de la greffe.

Pourtant, l'impact clinique de ces lésions retrouvées isolément n'est pas connu et le pronostic des patients ayant des lésions de glomérulite et/ou de capillarite en absence de DSA détectable, reste méconnu. Buob *et al.* ont analysé de manière rétrospective 20 patients ayant des lésions isolées de glomérulite⁴⁹. La glomérulite isolée était définie comme mise en évidence en absence de dépôt de C4d péri-tubulaire ou de DSA circulants. La présence de glomérulite isolée sur des biopsies protocolaires à 3 mois de la transplantation n'influait pas la fonction du greffon rénal à 3 ans. L'hypothèse était que ces lésions d'inflammation de la microcirculation, survenant de manière précoce dans les suites de la greffe, soient le fait

d'une inflammation aspécifique liée aux lésions d'ischémie-reperfusion, plus que le témoin de humoralité, et auraient donc un caractère réversible. Les biopsies réalisées à distance chez certains des patients montraient en effet une régression des lésions.

A notre connaissance, il n'y a pas d'étude qui évalue le devenir et la prise en charge des patients chez qui est mis en évidence une inflammation de la microcirculation sur des biopsies systématiques à 1 an de greffe, en absence d'immunisation anti HLA spécifiques du donneur concomitante. Notre but est donc d'étudier ces lésions de la microcirculation rénale, à distance des évènements ischémiques du post greffe immédiat, dans le but éventuel de l'intégrer à la prise en charge du patient sans attendre un évènement clinique éventuel.

L'objectif de ce travail de thèse est d'évaluer l'impact de ces lésions de glomérulite et capillarite sur le devenir à moyen terme des greffons et des patients. Nous avons donc analysé une série de 3926 patients des centres du réseau CENTAURE Necker, Lyon et Nantes entre le 1^{er} janvier 2001 et le 1^{er} janvier 2011, pour lesquels une inflammation de la microcirculation du greffon rénal ($g+cpt \geq 1$) était révélée sur une biopsie protocolaire à 12 mois de la greffe, en absence de DSA concomitant.

3. PATIENTS ET METHODES

Il s'agit d'une étude observationnelle, multicentrique, française, réunissant les trois centres de transplantation rénale des hôpitaux de Lyon, Necker et Nantes appartenant au réseau de Recherche en Transplantation CENTAURE.

3.1. COHORTE DIVAT

Notre cohorte constitue un échantillon de la cohorte DIVAT (Données informatisées et VALidées en Transplantation, www.divat.fr). Le recueil des données de la cohorte DIVAT a été effectué de manière prospective au cours des visites de suivi post-greffe. L'extraction des données de la base a été réalisée en mai 2014, certaines données manquantes ont été renseignées a posteriori. La cohorte a été déclarée à la CNIL, et un consentement écrit a été obtenu pour chaque patient participant. Un numéro informatique, unique par patient, permet une anonymisation des données informatisées.

3.2. CRITÈRES D'INCLUSION

- Transplantation rénale seule, ou rein-pancréas
- Issue de donneurs vivants, décédés de mort encéphalique ou à cœur non battant
- Réalisée entre le 1^{er} janvier 2000 et le 1^{er} janvier 2011
- Receveur âgé de plus de 18 ans
- Biopsie protocolaire du greffon rénal réalisée à 1 an de la greffe (entre 10.5 et 13.5 mois)
- Absence d'anticorps anti-HLA spécifiques du donneur détectables à 1 an de la greffe (entre 10.5 et 13.5 mois)

3.3. CRITÈRES DE NON INCLUSION

- Présence d'anticorps anti-HLA spécifiques du donneur en pré-transplantation
- Anticorps anti-HLA spécifiques du donneur non recherchés ou non connus à 1 an de la greffe (entre 10.5 et 13.5 mois)
- Rejet aigu prouvé sur la biopsie réalisée à 1 an de greffe (entre 10.5 et 13.5 mois)
- Données majeures nécessaires à l'analyse manquante (histologie, créatinémie à 1 ou 3 ans)

A noter que les patients ayant une histologie à un an classée « borderline », sont considérés comme suspects de rejet et ne sont pas exclus.

3.4. VARIABLES ÉTUDIÉES

3.4.1. Variable d'intérêt - Inflammation de la microcirculation rénale

Nous avons recueilli l'analyse histologique de la biopsie rénale à un an, selon la classification semi-quantitative de Banff en vigueur au moment de la biopsie. Une attention particulière a été portée à la présence de glomérulite ou de capillarite péri tubulaire. Un score glomérulite + capillarite péri tubulaire a été calculé. Les patients ont été classés en deux groupes d'étude selon la présence ou non d'une inflammation de la microcirculation du greffon rénal, qui constitue notre variable d'intérêt.

3.4.2. Facteurs de confusion potentiels

a. Caractéristique de la greffe

- Age, sexe, index de masse corporelle du receveur
- Etiologie de l'insuffisance rénale terminale
- Technique d'épuration extra rénale
- Antécédents de diabète, de dyslipidémie d'HTA, antécédents cardio-vasculaire, néoplasique

- Sérologie Hépatite B ou C
- Immunisation pré-greffe anti-HLA classe 1 et 2
- Age et sexe du donneur
- Donneur à critères élargis (ECD pour Extended Criteria Donor) : antécédent d'HTA du donneur, décès de cause cardiovasculaire et créatinine avant prélèvement ($> 132 \mu\text{mol/L}$ $\mu\text{mol/l}$) selon les critères de l'UNOS
- Type de donneur vivant, décédé de mort encéphalique ou à coeur non battant
- Centre de greffe
- Date de greffe
- Rang de la greffe
- Nombre d'incompatibilités HLA donneur/receveur sur locus A, B, DR
- Temps d'ischémie froide
- Traitement immunosuppresseur d'induction (déplétant ou non déplétant) et traitement d'entretien
- Retard de reprise de fonction du greffon (Nombre de dialyses en post-greffe, Nombre de jours de reprise de fonction)

b. Première année de greffe

- Survenue dans la première année d'un rejet prouvé histologiquement
- Infections virales à BK virus et CMV (définies par une répllication virale sanguine significative), ou infections urinaires bactériennes basses ou hautes
- Date d'arrêt des corticoïdes en post-transplantation
- Traitement immunosuppresseur d'entretien
- Immunisation anti-HLA à M12

3.4.3. Critères de jugement

L'objectif de notre étude était d'évaluer le devenir des patients ayant des lésions d'inflammation de la microcirculation sans dépôt de C4d et sans immunisation anti HLA décelable dans le sérum au moment de la biopsie de surveillance réalisée à un an de greffe. Le critère principal de jugement retenu était la pente de perte de débit de filtration rénale entre un et trois ans de greffe. La créatininémie était recueillie à six mois, un an, deux ans, trois ans et si possible quatre et cinq ans de la greffe, lors des visites de suivi annuelles. Le débit de filtration glomérulaire était estimé par la formule MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) et exprimé en ml/min/1.73m^2 ⁵⁰. Par ailleurs, nous avons retenu comme critères de jugements secondaires les paramètres suivants : le retour en dialyse, le décès et la protéinurie des 24h (g/24h), recueillis à six mois, à un an, puis tous les ans.

3.5. ANALYSES STATISTIQUES

3.5.1. Analyse descriptive

L'analyse descriptive des caractéristiques des patients à l'inclusion a été réalisée en fonction de la présence sur la biopsie d'une inflammation de la microcirculation. Elle a permis d'évaluer la comparabilité des groupes et de mettre en évidence des potentiels facteurs de confusion dans la relation entre l'examen anatomo-pathologique de la biopsie et l'évolution de la fonction du greffon rénal à moyen terme. Les groupes étaient comparés à l'aide d'un t-test pour les variables quantitatives et d'un chi-2 ou d'un test de Fisher exact pour les variables qualitatives.

3.5.2. Survie patient-greffon

Nous avons étudié de manière descriptive la survie patient-greffon, c'est-à-dire le temps entre la transplantation et le premier évènement survenant entre le retour en dialyse ou le décès du patient avec son greffon fonctionnel.

3.5.3. Pente d'évolution de la fonction rénale

Nous avons choisi d'analyser la pente d'évolution de la fonction rénale à moyen terme entre la date de la biopsie et la troisième année de greffe. Nous avons utilisé la différence de fonction par estimation du débit de la filtration glomérulaire, évaluée par la formule MDRD (ml/min/1.73m²), entre la première année post transplantation et la troisième année de greffe, calculée de la façon suivante :

$$\text{Pente DFG entre 1 et 3 ans} = (\text{DFG visite 3 ans} - \text{DFG visite 1 an}) / (\text{date visite 3 ans} - \text{date visite 1 an})$$

3.5.4. Analyse multivariée

Une régression linéaire a été utilisée avec, comme variable à expliquer, la pente reflétant l'évolution de la fonction rénale, et, comme variable explicative d'intérêt, le statut des patients concernant la présence d'une inflammation de la microcirculation sur la biopsie à un an. Dans un premier temps, une analyse univariée a été réalisée pour chaque variable explicative retenue comme cliniquement pertinente et pour les variables exprimées différemment dans l'analyse descriptive de façon significative au seuil de 5%. Dans un second temps l'analyse multivariée a été réalisée. Les variables significatives au seuil de 20% en univarié dans cette analyse étaient considérées comme des facteurs de confusion potentiels et donc rentrées dans l'analyse multivariée. Nous avons forcé également, dans la modélisation multivariée, les variables concernant le type de greffe (greffe de rein et greffe combinée rein-pancréas) ainsi que le statut borderline (présence d'au moins une lésion interstitielle ou tubulaire aiguë) et la présence de FIAT. Le modèle multivarié utilisait une stratégie de sélection pas à pas descendante. Le modèle de départ comprenait donc les variables forcées énumérées précédemment ainsi que les variables significatives au seuil de 20% en analyse univariée. Les variables étaient ensuite éliminées une à une jusqu'à ce que toutes les variables soient significatives au seuil de 5%. Une attention particulière était portée au coefficient de notre variable d'intérêt. Si la variation des coefficients était importante lors du retrait d'une

covariable, témoignant d'un effet de confusion, cette variable était conservée dans le modèle, même en dessous du seuil de significativité. L'adéquation et la qualité du modèle étaient évaluées. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R 3.0.1. Aucune interaction n'a été testée dans le modèle.

4. RESULTATS

4.1. DESCRIPTION DE LA POPULATION

4.1.1. Caractéristiques générales de la population

A partir des 3926 patients éligibles greffés entre le 1^{er} janvier 2000 et le 1^{er} janvier 2011 sur les trois centres de Lyon, Nantes et Necker, 350 patients ont été inclus dans notre étude. La Figure 16 présente le diagramme de flux de la population étudiée. Parmi ces patients, nous avons observé la présence d'une inflammation de la microcirculation sur la biopsie rénale, chez 99 patients d'entre eux, contre 251 qui n'en présentaient pas.

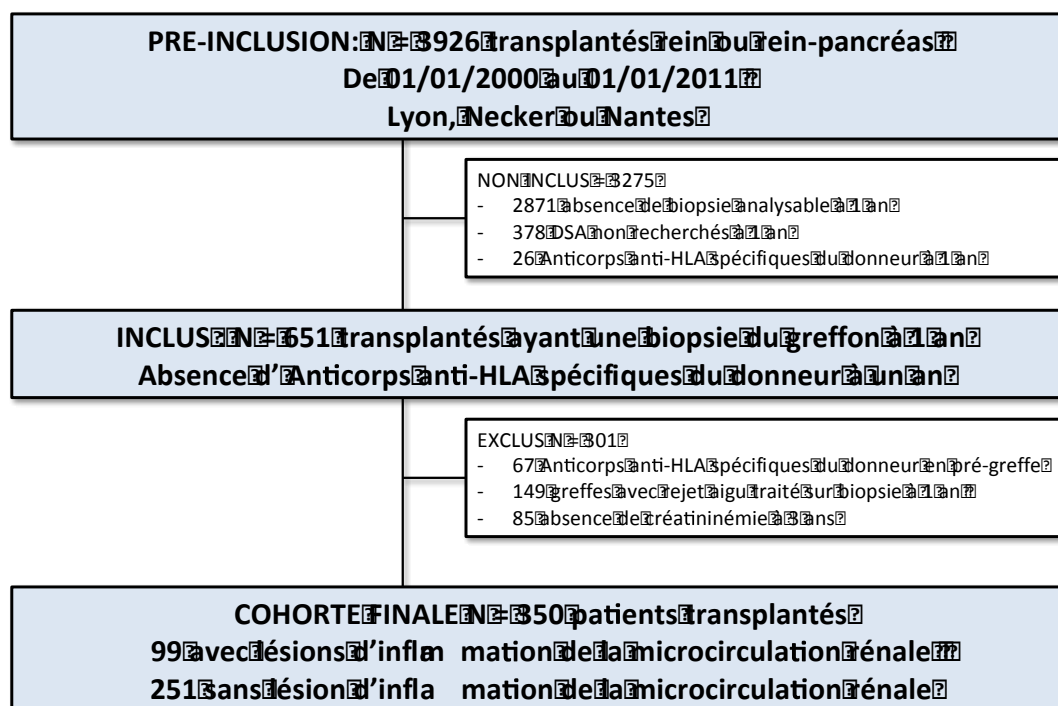


Figure 16 : diagramme de flux de la population étudiée.

Les patients greffés étaient issus majoritairement de Nantes (149 dont 27 ayant une inflammation de la microcirculation rénale), Necker (128 dont 33 ayant une inflammation de la microcirculation rénale), et 73 patients de Lyon (dont 39 ayant de la microcirculation rénale), Figure 17.

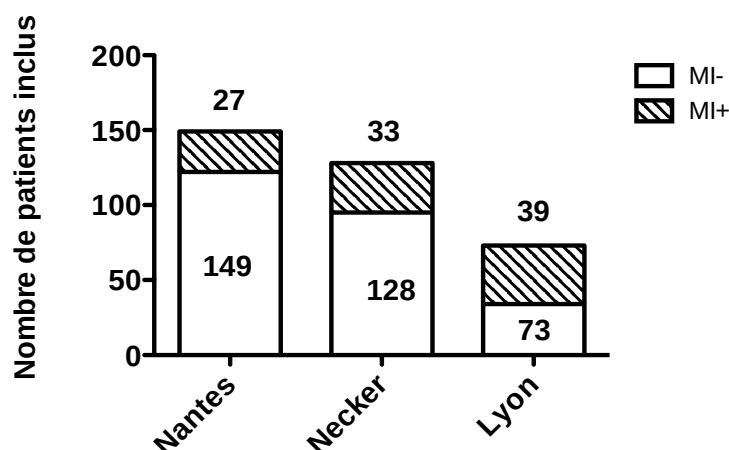


Figure 17 : Centres de Transplantation.

La quasi-totalité des greffes (93%) ont eu lieu à partir de 2006. La figure 17 présente l'année de transplantation des patients inclus.

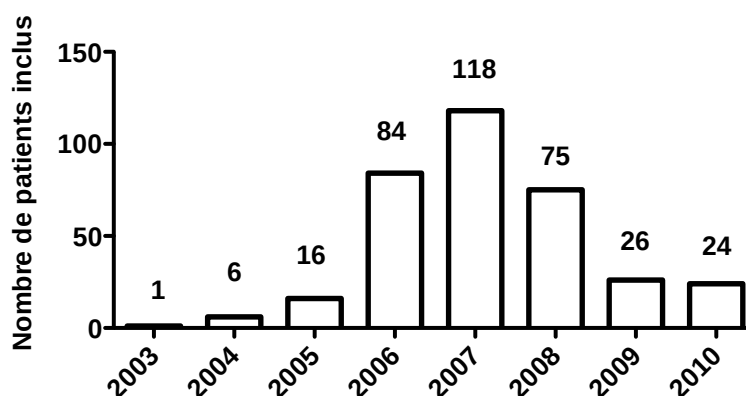


Figure 18 : Années de transplantation des patients inclus.

4.1.2. Caractéristiques de la greffe

Les tableaux 2 et 3 décrivent la population étudiée, au moment de la greffe, selon la présence ou non d'une inflammation de la microcirculation rénale sur la biopsie 1 an. L'âge moyen de la population étudiée était de 47 ans. Elle se composait à 69% d'hommes. Il n'était pas observé de différence de type de donneur entre les deux groupes. Les transplantations étaient issues de donneurs vivants dans 9,4 % des cas. 31,3 % des greffons provenaient de donneurs à critères élargis et 3,2% de donneurs à cœur non battant. Une des spécificités de notre

population était que 19,4 % des patients ont eu des greffes rein et pancréas, expliquant une forte représentation du diabète (25,4%) comme cause de l'IRC terminale. Les patients recevaient un traitement d'induction déplétant par sérum anti lymphocytaire, ou non déplétant par anti-CD25, puis une immunosuppression moderne de type Tacrolimus, Acide Mycophénolique et corticoïdes.

	Totale N=350	MI+ N=99	MI- N=251	Données manquantes	p-value
CARACTERISTIQUES DU RECEVEUR					
Age à la greffe (années)	47,3 ± 11,9	47,9 ± 12,8	47,0 ± 11,6	0	0,5479
Genre masculin	242 (69,1)	62 (62,6)	180 (71,7)	0	0,0974
Indice de masse corporelle (kg/m²)	23,8 ± 3,8	24,1 ± 4,0	23,7 ± 3,7	0	0,4392
Maladie rénale initiale				0	0,5713
- Indéterminée	47 (13,4)	10 (10,1)	37 (14,7)		
- Glomérulonéphrites	78 (22,3)	19 (19,2)	59 (23,5)		
- Cause interstitielle	112 (32,0)	79 (31,4)	33 (33,3)		
- Vasculaires	24 (6,8)	8 (8,0)	16 (6,4)		
- Diabète	89 (25,4)	29 (29,3)	60 (23,9)		
Technique d'épuration extra-rénale				1	0,9325
- Greffes préemptives	62 (17,7)	17 (17,2)	45 (17,9)		
- Dialyse péritonéale	16 (4,6)	4 (4,0)	12 (4,8)		
- Hémodialyse	271 (77,2)	78 (78,8)	193 (76,9)		
Antécédents de diabète	99 (28,3)	32 (32,3)	67 (26,7)	0	0,2922
Antécédents d'hypertension	324 (92,6)	85 (85,9)	239 (95,2)	0	0,0026
Antécédents cardiovasculaire	120 (34,3)	29 (29,3)	91 (36,3)	0	0,2165
Antécédents de dyslipidémie	122 (34,9)	29 (29,3)	93 (37,1)	0	0,1701
Antécédents de néoplasie	23 (6,6)	7 (7,1)	16 (6,4)	0	0,8129
Sérologie HCV positive	12 (3,5)	2 (2,2)	10 (4,0)	8	0,6142
Immunisation anti-classe I positive	61 (18,1)	21 (23,1)	40 (16,3)	13	0,1490
Immunisation anti-classe II positive	45 (13,5)	22 (25,0)	23 (9,4)	17	0,0002

Tableau 2 : Description des caractéristiques des receveurs à la greffe.

	Totale N=350	MI+ N=99	MI- N=251	Données manquantes	p-value
CARACTERISTIQUES DU DONNEUR					
Age	48,1 ± 15,7	47,0 ± 16,7	48,5 ± 15,3	0	0,4261
Genre masculin	208 (59,4)	56 (56,6)	152 (60,6)	0	0,4933
Créatininémie (micromol/L)	94,9 ± 78,5	90,2 ± 47,6	96,8 ± 87,9	5	0,3760
Statut du donneur				0	0,6509
- Vivant	33 (9,4)	10 (10,1)	23 (9,2)		
- Décès de causes vasculaires	166 (47,3)	43 (43,4)	123 (49,0)		
- Autres causes de décès	148 (42,2)	45 (45,5)	103 (41,0)		
Hypertension	64 (18,9)	18 (18,8)	46 (19)	12	0,9564
Donneur à critères élargis	89 (31,3)	26 (31,7)	63 (31,2)	33	0,9319
Donneur à coeur non battant	10 (3,2)	4 (4,5)	6 (2,6)	0	0,6205
CARACTERISTIQUES DE LA GREFFE					
Avant 2007	107 (30,6)	30 (30,3)	77 (30,7)	0	0,9454
Rein-Pancréas	68 (19,4)	22 (22,2)	46 (18,3)	0	0,4068
Seconde ou troisième greffe	27 (7,7)	12 (12,1)	15 (6,0)	0	0,0523
Au moins 5 incompatibilités ABDR	64 (18,3)	14 (14,1)	50 (20,0)	1	0,2023
Ischémie froide (heure)	18,0 ± 8,3	16,7 ± 8	18,5 ± 8,4	0	0,0636
Délai entre dialyse et transplantation	3,2 ± 3,2	3,3 ± 3,5	2,9 ± 2,3	62	0,2272
Traitement d'induction déplétante	136 (38,9)	50 (50,5)	86 (34,3)	0	0,0050
Traitement d'entretien					
- CSA	83 (23,7)	24 (24,2)	59 (23,5)	0	0,8840
- Tacrolimus	257 (73,4)	71 (71,7)	186 (74,1)	0	0,6489
- Inhibiteur de mTor	5 (1,4)	2 (2,0)	3 (1,2)	0	0,6242
- Belatacept, BMS	12 (3,4)	5 (5,1)	7 (2,8)	0	0,4708
- MMF/MPA ou AZA	339 (96,9)	94 (94,9)	245 (97,6)	0	0,3449
- Corticoïdes	313 (89,4)	90 (90,9)	223 (88,8)	0	0,5716
Retard au démarrage du greffon	0 75 (21,4)	15 (15,2)	60 (23,9)	0	0,0723

Tableau 3 : Description des caractéristiques des donneurs et de la greffe.

Nous avons observé plusieurs facteurs, répartis différemment selon notre critère d'intérêt « inflammation de la microcirculation » (p-value <0.05), et qui constituaient de potentiels facteurs de confusion. L'inflammation de la microcirculation était plus fréquente chez les secondes et troisièmes greffes par rapport aux premières greffes. Les patients ayant une

inflammation de la microcirculation avaient moins d'antécédent d'hypertension. Ils étaient plus fréquemment immunisés contre les antigènes HLA classe-II non DSA avant la greffe et contre les antigènes HLA classe-I et -II à un an de la greffe. Ils ont été logiquement plus souvent traités par induction déplétante au moment de la greffe. Les reprises de fonction retardées du greffon étaient étonnement plus rare, mais de manière non significative. Ce résultat s'explique probablement par un temps d'ischémie froide qui avait tendance à être plus court chez les patients ayant une inflammation de la microcirculation.

Enfin, au cours de la première année, 24% des patients avaient présenté un épisode de rejet avéré ou suspect : humoral dans 1,1% des cas, cellulaire dans 10%, et borderline dans 8,5%, qu'ils soient traités ou non. Les patients avec MI+ présentaient plus fréquemment un épisode de rejet aigu. Ils s'agissaient en particulier de rejets « borderline » le plus souvent non traités. Il n'y avait pas de différence au cours de la première année concernant les infections urinaires bactériennes ou les infections virales à CMV ou BK virus, Tableau 4.

	Totale N=350	MI+ N=99	MI- N=251	Données manquantes	p-value
CARACTERISTIQUES AU COURS DE LA PREMIERE ANNEE					
Traitement par corticoïdes	278 (79,4)	83 (83,8)	195 (77,7)	0	0,2406
Traitement par antihypertenseur	280 (84,3)	81 (82,7)	199 (85,0)	18	0,5848
Infection urinaire bactérienne	138 (39,4)	43 (43,4)	95 (37,8)	0	0,3355
Infection à CMV	34 (9,7)	13 (13,1)	21 (8,4)	0	0,1752
Infection à BK virus	25 (7,1)	6 (6,1)	19 (7,6)	0	0,6215
Rejet aigu prouvé ou suspecté	84 (24,0)	40 (40,4)	44 (17,5)	0	<0,0001
- Cellulaire	35 (10)	14 (14)	21 (8,3)		
- Borderline traité	30 (3,7)	3 (3)	10 (3,9)		
- Borderline non traité	17 (4,8)	13 (13)	4 (1,6)		
- Humoral	4 (1,1)	4 (4)	0 (0)		
- Indéterminé / Non biopsié	15 (4,2)	6 (6,1)	9 (3,2)		

Tableau 4 : Description des traitements et des événements infectieux et immunologiques au cours de la 1ere année de greffe.

	Totale N=350	MI+ N=99	MI- N=251	Données manquantes	p-value
IMMUNISATION HLA A UN AN POST-GREFFE					
Immunisation anti-Classe I +	23 (6,6)	14 (14,1)	9 (3,6)	0	0,0003
Immunisation anti-Classe II +	29 (8,3)	21 (21,2)	8 (3,2)	0	<0,0001
Ac Anti-HLA spécifique du donneur	0	0	0	0	

Tableau 5 : Immunisation anti HLA à 1 an de greffe.

4.1.3. Description histologique

Les patients sans inflammation de la microcirculation avaient par définition un score g+cpt égal à 0. Les patients avec inflammation de la microcirculation avaient un score variant de 1 à 4 : 70% avaient un score à 1, 15% à 2, 15% à 3 ou 4, Figure 19.

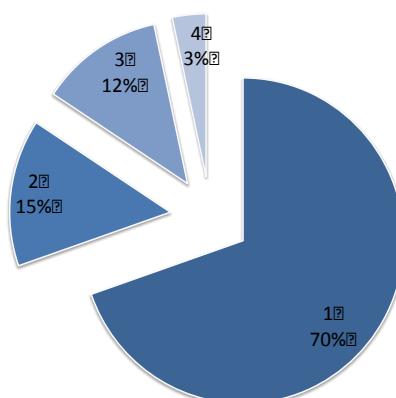


Figure 19 : Répartition de l'intensité du score g+cpt dans la cohorte.

La glomérulite était en moyenne de $0,64 \pm 0,71$, la capillarite péritubulaire à $1,49 \pm 0,84$ et le score g+cpt à $1,49 \pm 0,84$. Le C4d était positif chez seulement 11 patients sur l'ensemble des patients inclus, avec une répartition égale entre les deux groupes. Le C4d n'était pas connu pour 75 patients, 17 avec inflammation de la microcirculation et 58 patients sans. 3,7% des 82 patients avec inflammation de la microcirculation et une analyse du C4d réalisé, avaient un C4d positif focal ou diffus. Sur les 193 patients sans inflammation de la microcirculation et

avec un C4d analysable, 4,1% avaient un C4d positif. On observait significativement plus de lésions aiguës d'infiltrat interstitiel et de tubulite et donc plus de rejets « borderline » chez les patients avec inflammation de la microcirculation.

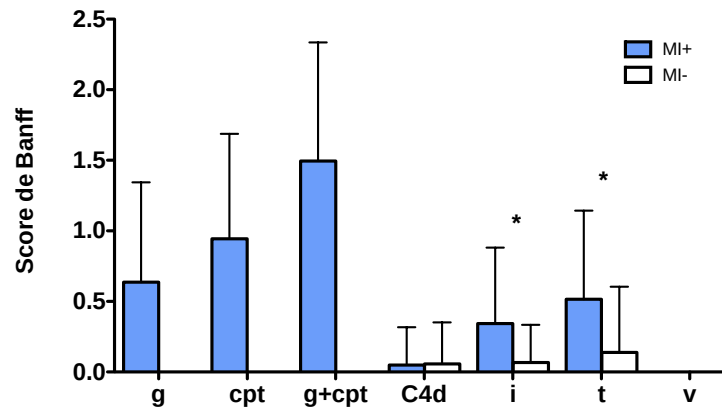


Figure 20 : Lésions histologiques aiguës à un an, en fonction de la présence d'une inflammation de la microcirculation (MI+), moyenne $\pm$ écart type, t-test de Mann Whitney.

De façon attendue, les lésions de glomérulopathie d'allogreffe, bien que peu importantes, étaient plus fréquentes dans le groupe avec inflammation de la microcirculation, de même que les lésions chroniques de FI/AT.

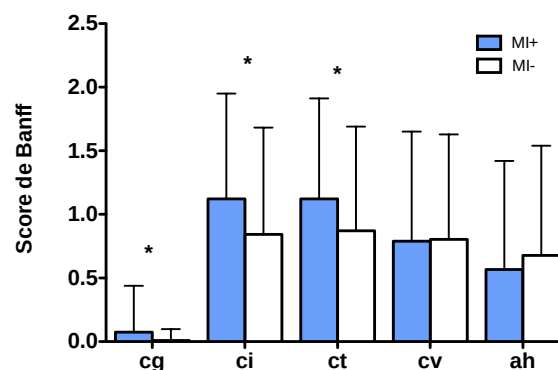


Figure 21 : Lésions rénales chroniques à un an, en fonction de la présence d'une inflammation de la microcirculation (MI+), moyenne $\pm$ écart type, t-test de Mann Whitney.

	Totale N=350	MI+ N=99	MI- N=251	Données manquantes	p-value
BIOPSIE A 1 AN- LESIONS AIGUES					
Délai post transplantation (mois)	12,5 ±1,2	12,5 ±0,8	12,6 ±1,9	0	0,6914
Biopsie systématique	339 (96,9)	96 (97,0)	243 (96,8)	0	1,0000
Glomérulite « g »	0,18 ±0,47	0,64 ±0,71	0 ±0	0	/
Capillarite péri-tubulaire « cpt »	0,25 ±0,56	0,94 ±0,74	0 ±0	10	/
Score g+cpt	0,39 ±0,79	1,49 ±0,84	0 ±0	10	/
Dépôt de C4d	0,06 ±0,28	0,05 ±0,27	0,06 ±0,29	75 (17/58)	0,8386
Artérite « v »	0 ±0	0 ±0	0 ±0	9	1,0000
Tubulite « t »	0,25 ±0,54	0,51 ±0,63	0,14 ±0,47	0	<0,0001
Infiltrat interstitiel « i »	0,15 ±0,38	0,34 ±0,54	0,07 ±0,27	0	<0,0001
Rejet « borderline »	45 (13,1)	45 (45)	25 (10)	0	<0,0001
i ≥ 1 ou t ≥ 1	85 (24,3)	53 (53,5)	32 (12,7)	0	<0,0001
BIOPSIE A 1 AN- LESIONS CHRONIQUES					
Glomérulopathie d'allogreffe « cg »	0,03 ±0,21	0,07 ±0,36	0,01 ±0,09	10	0,0096
Fibrose interstitielle « ci »	0,92 ±0,84	1,12 ±0,83	0,84 ±0,84	3	0,0022
Atrophie tubulaire « ct »	0,94 ±0,82	1,12 ±0,79	0,87 ±0,82	4	0,0037
ci+ct>2	76 (22,0)	46 (18,5)	30 (30,6)	4	0,0146
Existence d'une FIAT	194 (55,7)	62 (63,3)	132 (52,8)	2	0,0771
Endartérite fibreuse « cv »	0,80 ±0,84	0,79 ±0,86	0,80 ±0,82	36	0,7911
Hyalinose artériolaire « ah »	0,65 ±0,86	0,57 ±0,85	0,68 ±0,86	8	0,1919

Tableau 6 : Histologie des biopsies rénales à un an selon la classification de Banff.

4.2. SURVIE PATIENT-GREFFON

A trois ans de la greffe, un seul évènement a eu lieu sur les 350 patients. Un patient avec une inflammation de la microcirculation est retourné en dialyse puis décédé suite à une infection pulmonaire mycosique. A cinq ans dans le groupe avec inflammation de la microcirculation, sur 50 patients suivis, 4 patients (8,0%) sont retournés en dialyse et 2 autres (4%) sont décédés, contre 9 retours en dialyse (5,6%) et 7 décès (4,5%) sur 156 patients suivis dans le groupe sans inflammation de la microcirculation.

4.3. EVOLUTION DE LA FONCTION RÉNALE

A 1 an, les patients avec inflammation de la microcirculation ont tendance à avoir une meilleure fonction rénale à 59,1 contre 56,8 ml/min selon l'estimation du débit de filtration glomérulaire calculée par la formule MDRD, non significatif. Au cours du temps, la tendance semble s'inverser, puisqu'à trois ans les deux groupes ont une fonction rénale superposable, et à 5 ans, les patients avec une inflammation de la microcirculation ont tendance à avoir une clairance plus basse à 52,9 contre 54,7 en moyenne, non significatif (Annexe 2A).

Par conséquent, la pente de perte DGF annuelle entre un et trois ans a tendance à être plus importante à $-1,8 \pm 7,6$ contre $-0,7 \pm 6,4$ ml/min/an, $p = 0,2224$, dans le groupe avec inflammation de la microcirculation (Annexe 3). La moyenne de perte de DFG totale entre un et cinq ans de greffe était de $-8,33 \pm 18,7$ contre $-1,04 \pm 15,82$ ml/min, $p=0,0142$, Figure 22.

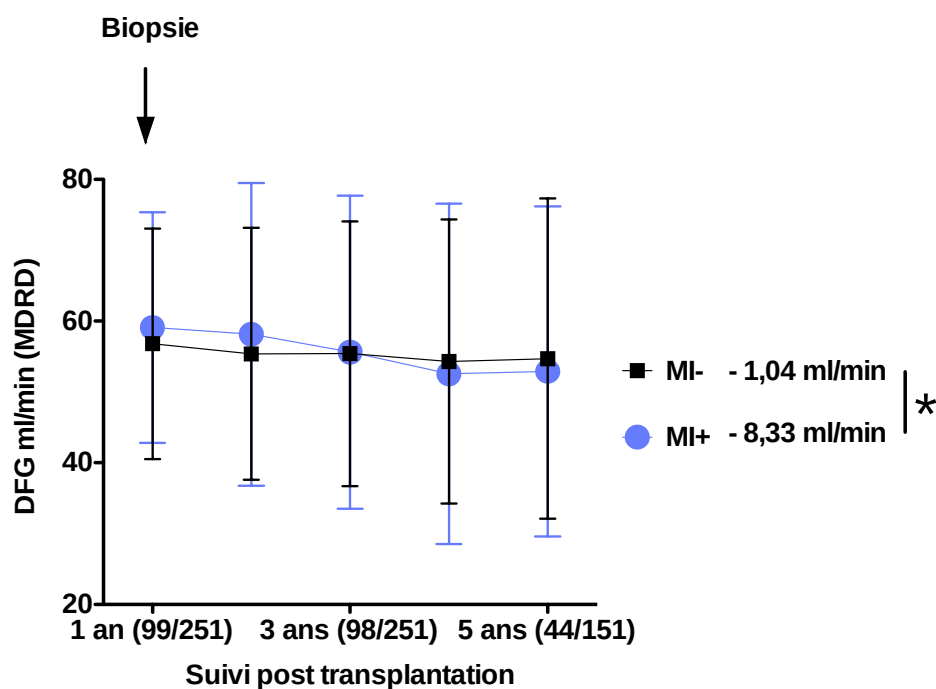


Figure 22 : Perte de fonction rénale entre un et cinq ans de greffe selon la présence d'inflammation de la microcirculation (MI+) à un an de greffe. A un an $n=350$ (99/251), à trois ans $n=349$ (98/251) et à cinq ans $n=195$ (44/151). Valeurs représentée en moyenne et déviation standard, t-test Mann Whitney.

4.4. EVOLUTION DE LA PROTÉINURIE

La protéinurie ne semblait pas différente à un et trois ans de greffe. A 5 ans, une tendance à une plus forte protéinurie, à $0,9 \pm 1,9$ g/24h, était observée dans le groupe avec inflammation de la microcirculation ($n=28$) contre $0,3 \pm 0,9$ g/24h ($n=83$), $p = 0,1238$. Trop de données étaient manquantes sur la protéinurie et sur les traitements pour autoriser une interprétation de ces résultats, Annexe 4.

4.5. ANALYSE MULTIVARIEE DE LA PENTE DE DEGRADATION DE LA FONCTION RENALE ENTRE 1 AN ET 3 ANS POST GREFFE

Les variables pertinentes cliniquement ou réparties différemment entre les deux groupes ont été testées en univarié. Les variables dont la p-value est inférieure à 20 %, étaient considérées comme apportant de l'information au modèle, Annexe 5. Elles étaient alors introduites dans le modèle d'analyse multivariée. Le modèle multivarié était donc initialement composé des variables explicatives suivantes : inflammation de la microcirculation, type de greffe (rein pancréas versus rein), la présence de lésions interstitielles ou tubulaires aiguës, l'immunisation HLA classe II au moment de la greffe, et HLA classe I à 1 an de greffe, le rejet borderline, l'existence d'une FIAT, le sexe du receveur, la période de greffe (≥ 2007), les antécédents de diabète et cardiovasculaire du receveur, la présence de C4d positif.

	Coefficient $\pm$ Ecart type	p-value
Inflammation microcirculation	-1,9160 $\pm$ 0,9125	0,0365
$g \geq 1$ ou $cpt \geq 1$		
Intercept	-0,0423 $\pm$ 0,6119	0,9449
Grefe Rein vs Rein-Pancréas	-1,2489 $\pm$ 0,9527	0,1908
Immunisation anti-HLA classe II + à la greffe	1,5550 $\pm$ 1,0724	0,1480
Existence d'une FIAT	-1,0909 $\pm$ 0,7399	0,1414
$i \geq 1$ ou $t \geq 1$	0,6922 $\pm$ 0,9539	0,4686

Tableau 6 : Modèle multivarié expliquant la pente d'évolution de la fonction rénale entre un et trois ans post-transplantation (n=330) selon la présence d'une inflammation de la microcirculation sur la biopsie a un an.

Le tableau 6 présente le modèle multivarié obtenu. Après ajustement sur les facteurs de confusion identifiés dans le modèle univarié, nous constatons que la pente annuelle de diminution de la fonction rénale chez les patients ayant une inflammation de la

microcirculation rénale est plus élevée d'en moyenne $1.92 \text{ ml/min/1.73m}^2$ par rapport aux patients n'ayant pas d'inflammation de la microcirculation. Autrement dit, les patients greffés rénaux sans lésion interstitielle ou tubulaire aiguës ou chroniques (FIAT) surajoutées, et non immunisés contre les molécules HLA de classe II au moment de la greffe, ont une pente annuelle d'évolution moyenne de leur fonction rénale de $-0.04 \text{ ml/min/1.73m}^2$ s'ils n'ont pas d'inflammation de la microcirculation et de $-2 \text{ ml/min/1.73m}^2$ (i.e. : $-0.04 - 1.916$) s'ils ont une inflammation de la microcirculation diagnostiquée sur la biopsie réalisée à un an.

De nombreuses données de C4d, étaient manquantes (58 sans inflammation de la microcirculation et 17 avec inflammation de la microcirculation). Dans le but de conserver de la puissance au modèle, il a été réalisé initialement sans la prise en compte du C4d. L'apport du C4d dans le modèle a été testé secondairement. Dans le second modèle testé ($n=260$) le C4d ne modifie pas le coefficient lié à l'inflammation de la microcirculation, qui reste à -1.8 ± 1.07 , $p=0.044$. Le C4d a un coefficient de -4.07 ± 2.0879 , $p=0.0519$. La perte de puissance liée à la réduction du nombre de patients analysés de 330 à 260, faisait passer la p-value de l'inflammation de la microcirculation au-dessus du seuil de significativité (Annexes 3).

4.1. SCORE D'INFLAMMATION DE LA MICROCIRCULATION > 1

Nous avons réalisé une analyse en sous groupe concernant le groupe des 29 patients avec un score d'inflammation de la microcirculation à 2 ou plus (Annexe 2B). A trois ans, la perte de fonction rénale était à $6,07 \pm 19,1$ contre $-1,35 \pm 12,7$, sans inflammation, $p = 0,2611$. A cinq ans, la perte de DGF total devenait significativement plus importante à $10,16 \pm 22,07$ ($n=18$) dans le groupe avec un score >1 , $p=0,0463$, Figure 23.

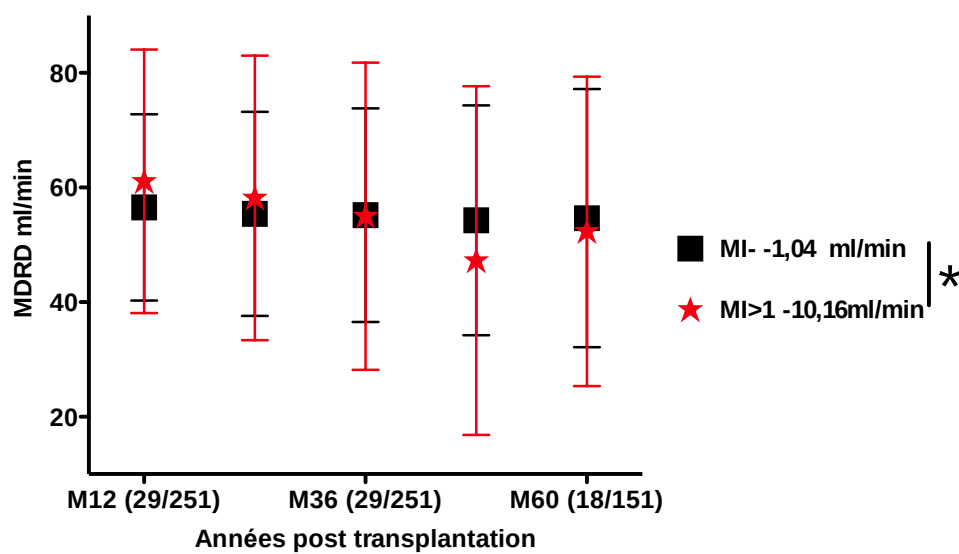


Figure 23 : Perte de fonction rénale entre un et cinq ans de greffe selon la présence à un an de greffe d'inflammation de la microcirculation à 2 ou plus ($MI>1$) ou l'absence d'inflammation ($MI-$). A un an $n=280$ (29/251), à trois ans $n=280$ (29/251) et à cinq ans $n=169$ (18/151). Valeurs représentée en moyenne et déviation standard, t-test Mann Whitney.

5. DISCUSSION

Le diagnostic actuel de rejet est basé sur l'analyse anatomo-pathologique des lésions du greffon diagnostiquée sur un fragment biopsique du greffon rénal généralement dans un contexte de dégradation de la fonction rénale. Le suivi de l'immunisation anti-HLA spécifique (ou non) du donneur dans le sérum des receveurs participe au diagnostic des rejets à médiation humorale. Cependant, la généralisation récente des biopsies de surveillance, a permis d'identifier des lésions histologiques en dehors d'une immunisation ou d'un contexte clinique aigu ou chronique, rendant complexe leur interprétation et leur prise en charge thérapeutique. Le but de notre étude était d'apprécier les facteurs associés et les conséquences sur le moyen terme de la présence, sur les biopsies de surveillance à 1 an, d'une inflammation de la microcirculation rénale, en absence d'anticorps anti-HLA spécifique du donneur. Notre hypothèse de travail était que la présence de telles lésions « infra-cliniques » à 1 an étaient potentiellement associée à une perte de fonction rénale accélérée entre un et trois ans de greffe. Afin d'obtenir un échantillon de patients suffisant pour une exploitation statistique satisfaisante, nous avons établi une collaboration avec les centres du réseau DIVAT/CENTAURE (Necker et Lyon). Nous avons ainsi pu montrer, en tenant compte des facteurs de confusion « classiques » en transplantation rénale, que les patients présentant une inflammation isolée de la microcirculation sans immunisation HLA anti-donneur concomitante avait une perte significative de fonction rénale entre 1 an et 3 ans de greffe.

5.1. POPULATION ETUDIEE

Dans notre cohorte, le taux d'immunisation était faible, seulement 18% des patients étaient immunisés en HLA de classe I et 13,5% en classe-II. Les patients recevaient un traitement immunosuppresseur moderne classique avec une induction pour l'ensemble d'entre eux soit par antiCD25, soit par sérum anti-lymphocytaire, et un traitement d'entretien par Tacrolimus

et MMF ou MPA. A un an, plus des trois quarts des patients recevaient encore une corticothérapie. Au cours de la première année, 15,5% des patients avaient présenté un épisode de rejet avéré et 8,5% des lésions borderline infra-cliniques, ce qui correspond aux données de la littérature pour des patients à risque immunologique standard ^{9,15}.

5.2. ASSOCIATION AUX LÉSIONS BORDERLINES

Nous avons analysé l'inflammation de la microcirculation isolée, ne répondant pas à la définition actuelle d'un rejet aigu humoral. En dehors des rejets aigus avérés, nous n'avons pas exclu les patients ayant des lésions interstitielles et tubulaires aiguës associées. Nous avons alors observé que 31% des patients du groupe avec inflammation de la microcirculation présentaient des lésions « borderline » associées sur la biopsie à un an. Seulement 5% des patients sans inflammation de la microcirculation avaient des telles lésions. L'association était similaire pour des scores MI supérieur à 1. Cette association de lésions inflammatoires interstitielles « borderline », et d'inflammation de la microcirculation peut évoquer un mécanisme immunologique commun à médiation cellulaire comme montré par Fahim *et al.*⁵¹. Contrairement à ce qui était attendu, nous n'avons pas mis en évidence la présence de plus de dépôts de C4d péri-tubulaire, accompagnant ces lésions de la microcirculation. Sous réserve de données manquantes, seulement 3,7 % des patients avec inflammation de la microcirculation avaient des dépôts de C4d.

5.3. DEFAUT DE SPECIFICITE POUR LE REJET HUMORAL

Ces résultats suggèrent un mécanisme de constitution de ces lésions différent du rejet humoral classique. La glomérulite et la capillarite péri-tubulaire sont pourtant des lésions ambiguës qui manquent de spécificité. L'accumulation de cellules inflammatoires dans les capillaires rénaux glomérulaires ou péri-tubulaire est principalement décrite dans le rejet humoral. Ces lésions témoignent alors, de l'activation de l'endothélium micro vasculaire par les DSA. Les anticorps anti-HLA fixant le complément⁵² entraînent une activation de la voie classique et le

recrutement de cellules mononuclées types monocytes-macrophages. Les anticorps ne fixant pas ou peu le complément, notamment après leur fixation à l'endothélium, entraînent le recrutement des leucocytes par activation de l'endothélium ou par leur récepteur au fragment Fc des anticorps⁵³⁻⁵⁵.

Sis *et al.*³⁹ ont mis en évidence que la glomérulite est le plus souvent associée à du rejet humoral mais qu'elle est associée à des rejets cellulaires dans 21% des cas, ou à des lésions de glomérulonéphrite, dans 16% des cas. Ils montraient aussi que dans la première année de greffe, la capillarite péri-tubulaire peut être associée à la nécrose tubulaire, dans 24% de cas ou à du rejet aigu cellulaire dans 16% des cas. Ils montraient une augmentation des cellules NK et des macrophages dans les lésions d'inflammation de la microcirculation, mais également des lymphocytes T³⁹

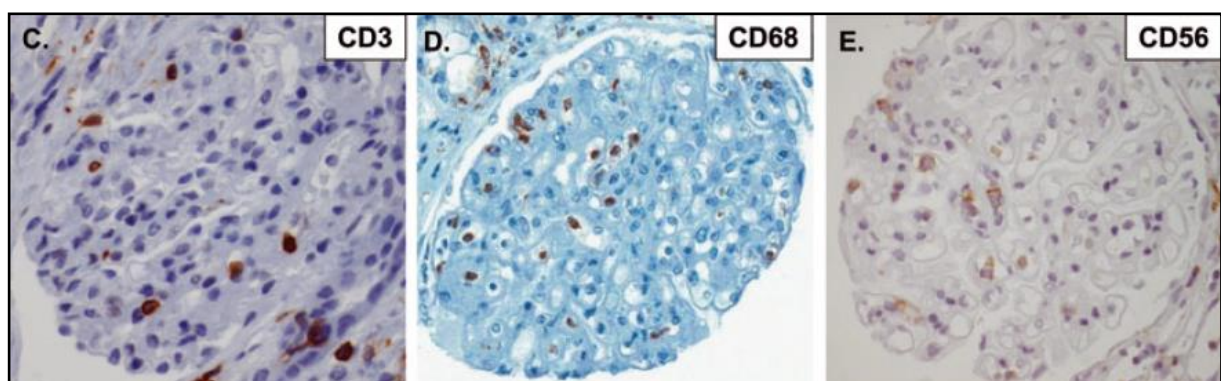


Figure 24 : coupes histologiques avec marquages en immunohistochimie CD3 LT, CD68 monocytes macrophages et CD56 cellules NK, Sis *et al.*³⁹.

Fahim *et al.*⁵¹, ont analysé le type cellulaire de l'infiltrat présent dans la capillarite péri-tubulaire par immunohistochimie. L'infiltrat de type monocytes-macrophages était prédominant lorsque la capillarite s'accompagnait de C4d, alors que cet infiltrat était mixte, de type monocyttaire et lymphocytaire T en l'absence de dépôts de C4d, témoignant d'un probable mécanisme de rejet médié par les lymphocytes T. De même, Magil *et al.*^{51,56,57} montrent que la glomérulite, sans dépôt de C4d, est composée principalement d'un infiltrat de

cellules T, en faveur d'un mécanisme de rejet cellulaire ou mixte. A l'inverse, la glomérulite associée à des dépôts de C4d péri-tubulaire, témoins de la réaction humorale, était composée d'un infiltrat majoritairement type monocytes-macrophages. Cet infiltrat de monocytes-macrophages est un facteur prédictif indépendant de l'évolution défavorable de la greffe à deux et quatre ans, indépendamment de la présence de C4d⁴⁰. Dans le rejet humoral, les monocytes-macrophages, mais également les cellules NK et les transcrits de cellules NK, sont augmentés dans les capillaires péri-tubulaires, en comparaison au rejet cellulaire³⁸.

Les lésions de la microcirculation rénale peuvent aussi résulter d'infections virales par le CMV⁵⁸, plus rarement par le BK virus⁵⁹, ou de récurrence de glomérulonéphrite. Cependant, dans notre population, nous n'avons pas retrouvé de surreprésentation, ni des glomérulonéphrites, comme étiologie d'insuffisance rénale terminale, ni d'infections virales, dans l'année précédant la biopsie dans le groupe avec inflammation de la microcirculation.

Les lésions histologiques de l'endothélium, en particulier la capillarite, sont évocatrices mais non spécifiques d'un rejet humoral, et peuvent conduire à des diagnostics par excès. D'autres lésions d'inflammation de la microcirculation peuvent être également retrouvées : les rejets mixtes ou cellulaires. La dernière classification de Banff 2013 a d'ailleurs été modifiée pour prendre en compte ce défaut de spécificité des lésions d'inflammation de la microcirculation, en particulier en l'absence de C4d, même en présence d'anticorps anti-HLA spécifiques du donneur⁶⁰. Le phénotypage de l'infiltrat cellulaire sur les biopsies pourrait permettre d'orienter le clinicien devant ces lésions encore ambiguës d'inflammation de la microcirculation, en affinant l'analyse histologique et en orientant vers un type de rejet, soit de cellulaire médié par les Lymphocytes T, soit humoral avec une cytotoxicité directe ou à médiation cellulaire dépendante des anticorps. Nous avons pour projet de caractériser le

phénotype de l'infiltrat inflammatoire de ces greffons et de réaliser des éluions d'anticorps anti HLA ainsi que de dosage par ELISA (One Lambda inc.) des anticorps anti AT1R comme décrit par Dragun *et al.* ⁶¹.

5.4. ALTERATION DE LA FONCTION RENAL A COURT TERME ESTIMEE PAR LE CALCUL DU DFG - MODELE MULTIVARIE

Nous avons montré que l'inflammation de la microcirculation du greffon rénal, sans DSA circulants, entraîne une perte de fonction rénale indépendamment des autres paramètres étudiés, et notamment, de lésions « borderline », ou de la FIAT, ou encore de la présence de C4d. Le modèle que nous avons utilisé nous a permis d'intégrer ces variables de confusion pouvant être associée au chemin causal de l'altération de la fonction du greffon. L'utilisation d'un modèle statistique multivarié, ajusté sur ces variables de confusion, nous a permis d'identifier le lien entre inflammation de la microcirculation et évolution de la fonction rénale, indépendamment de toutes les autres variables testées. Nous avons ainsi montré que l'inflammation de la microcirculation du greffon, à un an de la greffe, était associée à une dégradation de la fonction du greffon avec une perte de DFG de -1,9 ml/min/an entre un et trois ans de greffe, comparé aux patients ne présentant pas ce type de lésion. Ce lien entre glomérulite, capillarite, et dégradation de la survie rénale, est cohérent avec la littérature. Lefaucheur *et al.* ⁶² montre qu'au cours du rejet aigu humoral, ces lésions étaient associées à un moins bon pronostic de la greffe. Chez les patients bénéficiant de greffe incompatible, désensibilisés, plusieurs auteurs retrouvent cette association entre les lésions d'inflammation de la microcirculation et la survie rénale ^{11,28,43,47,63}. Ces lésions étaient attribuées à un rejet humoral infra-clinique et évoluaient vers l'apparition de lésions chroniques entraînant la perte de fonction rénale.

5.5. DELAIS POST GREFFE DES LESIONS INFRACLINIQUES

Sur des biopsies précoces, à trois mois de la greffe, l'équipe de Lille ⁴⁹ a analysé la présence d'une inflammation isolée de la microcirculation et, contrairement à notre étude, il n'a pas retrouvé ce lien avec la fonction rénale à moyen terme. Les auteurs ont fait l'hypothèse de lésions en rapport avec l'ischémie-reperfusion initiale de la greffe, et qui seraient au moins en partie réversible à court terme. La population était par ailleurs plus sélectionnée, car sans aucune lésion aigue. Ces résultats étaient compatibles avec l'étude de Sis *et al.* ³⁹ qui mettaient en évidence le lien, au cours de la première année de greffe, entre inflammation de la microcirculation et la présence de lésions anoxiques de nécrose tubulaire aiguë, plutôt qu'avec des lésions de rejet. A l'inverse, Nabokow *et al.* (Abstract# 601, ATC 2014) retrouvent cette association entre la glomérulite isolée et un pronostic défavorable de la greffe avec un suivi moyen de 4 ans.

Dans notre étude, les biopsies réalisées étaient « tardives » à un an de la transplantation, à distance des lésions d'ischémie-reperfusion initiales. Ce délai avant la biopsie semble s'accompagner d'une plus grande spécificité des lésions, notamment concernant l'endothélium microvasculaire du greffon, affecté par la période péri-opératoire. Les lésions constatées à un an, à l'inverse des lésions précoces sont corrélées à la fonction du greffon et doivent être prises en compte. Cependant à un an après la greffe des lésions endothéliales sont probablement déjà établies. L'analyse en microscopie électronique pourrait montrer à ce stade des signes précoces d'un début de multi lamellation endothéliale, conduisant à l'apparition secondaire de glomérulopathie d'allogreffe (GA).

5.6. GLOMÉRULOPATHIE D'ALLOGREFFE ET MI

La glomérulopathie d'allogreffe était peu présente dans notre cohorte mais elle était associée significativement aux lésions d'inflammation de la microcirculation. Les lésions de GA, sont généralement associée à la présence des DSA ⁶⁴, et suivent l'apparition de la glomérulite ⁶⁵.

Elles peuvent cependant se développer en dehors de la présence de DSA ou de C4d ^{48,66}. Le délai de constitution de la glomérulopathie d'allogreffe est de l'ordre de 15 mois, après apparition des lésions microvasculaires inflammatoires ⁶⁴.

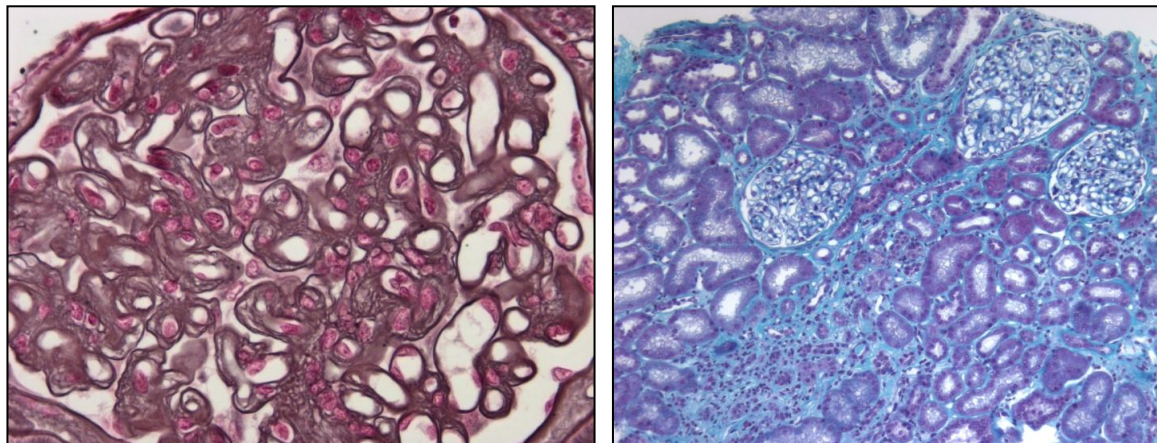


Figure 25 : A gauche, aspect de double contours de la glomérulopathie d'allogreffe « cg ». A droite, lésions de fibrose interstitielle et d'atrophie tubulaire « FIAT ».

De même, à un an, les lésions chroniques de fibroses interstitielles et d'atrophies tubulaires qui peuvent être induites par les lésions microvasculaires, ont été retrouvées plus fréquemment, dans le groupe avec inflammation de la microcirculation.

5.7. ANTICORPS SPECIFIQUES DU DONNEUR

Nous ne pouvons exclure que des DSA soient impliqués effectivement dans le mécanisme d'apparition de ces lésions, et qu'ils n'aient pas été détectés par les techniques employées. Sis *et al.*³⁹ avaient montré que le score « g+cpt » des lésions d'inflammation de la microcirculation rénale permettait de prédire la présence d'anticorps anti-HLA spécifiques du donneur, en particulier à partir du 351^{ème} jour de greffe.

L'absence de DSA était un critère d'inclusion indispensable. Elle distinguait notre population des rejets humoraux classiques. Nous avons inclus 99 patients ayant ces lésions d'inflammation à 12 mois de la greffe, en l'absence de DSA concomitants. Ces patients avaient eu une recherche de DSA HLA à un an qui était négative. Si la donnée était manquante, ils étaient exclus de l'analyse. Cependant, les techniques de détection des

anticorps anti-HLA ont considérablement évoluées dans le temps. Historiquement depuis la recherche des DSA se faisait par analyse du pourcentage de cellules lysées au microscope par Lymphotoxicité-complément dépendante (LCT), elle se fait dorénavant, par la mesure de densité optique par ELISA, ou la mesure de la Mean Fluorescence Intensity (MFI) par Cytométrie de flux/Luminex®. Ces techniques sont de plus en plus sensibles et spécifiques et ont une meilleure résolution, mais manquent encore de standardisation. Les seuils de positivité de la recherche restent peu consensuels selon les techniques et les centres, et la reproductibilité de ces tests est insuffisante. Dans notre cohorte, la détection des DSA suivait la pratique clinique locale. Elle était réalisée par une technique de dépistage initiale ou par technique d'identification haute définition s'ils y avaient des anticorps anti-HLA. Cette recherche est réalisée actuellement par des techniques les plus sensibles (Luminex One Lambda inc. pour Necker et Nantes et Gen probe inc. Pour Lyon). Il n'est pas impossible que des DSA n'aient pas été détectés, avec les techniques, et selon les normes utilisées, notamment pour les greffes les plus anciennes. Il apparaît nécessaire de vérifier l'absence de DSA, chez tous les patients, par les techniques les performantes actuelles (Luminex® dépistage voire Haute définition), éventuellement en prenant les seuils les plus bas reconnus. On s'exposerait alors à un risque de faux positif avec les techniques Luminex®, du fait d'un bruit de fond inhérent à la technique de cytométrie de flux.

Par ailleurs, des Anti-HLA DSA étaient peut-être présent en pré greffe a des taux faibles. Mais, il a été montré qu'une fois les DSA apparus, ils restaient le plus souvent présents dans le sang circulant,²⁷ en dehors de traitement spécifique.

D'autre part, des anticorps anti-HLA spécifique du donneur « séquestrés » dans le greffon ont été mis en évidence par élution, mais ils s'accompagnaient de DSA des mêmes spécificités dans le sang circulant⁶⁷.

Enfin, ces lésions évocatrices d'humoralité peuvent être le témoin d'anticorps spécifiques du donneur non-HLA, dont la recherche n'est pas réalisée en pratique courante. D'authentiques rejets aigus humoraux non liés à l'apparition d'anticorps anti-HLA prouvent que des antigènes non-HLA peuvent être responsables de tableaux identiques. Parmi les cibles antigéniques rapportées, on retrouve notamment les antigènes présents sur les cellules endothéliales tels que les MICA (MHC class I chain-related gene A)²², et les récepteurs de type 1 de l'angiotensine II²³.

5.8. IMPACT DU C4D ET LIEN ENTRE C4D MCI ET SURVIE DU GREFFON

Seulement 3,7 % des patients avec inflammation de la microcirculation avaient des dépôts de C4d dans les capillaires péri-tubulaires. Le nombre de données manquantes sur le C4d (75 au total, 17 pour le groupe avec inflammation de la microcirculation), nous a poussé à réaliser une première analyse multivariée, en ne tenant pas compte de ce critère. L'ajout de la variable C4d ne modifiait pas le lien entre l'inflammation de la circulation et la perte de fonction rénale. Cette perte de DGF était indépendante du statut C4d. Les dépôts de C4d, bien que rarement présents et de façon similaire dans les deux groupes semblaient être associés à une aggravation de perte de la fonction rénale de l'ordre de -4ml/min/an, indépendamment de l'inflammation de la microcirculation. Ces résultats sont cohérents avec les données de la littérature. En effet, l'association entre les dépôts de C4d et le pronostic rénal n'est plus à démontrer, au cours du rejet aigu humoral clinique⁶⁸, ou infra-clinique, sur des biopsies protocolaires de patients greffés en HLA-incompatible⁶³.

5.9. LIMITATION - METHODOLOGIE

Notre étude présentait un certain nombre de limitations. Il s'agit d'une étude rétrospective observationnelle. La méthodologie ne permet pas la mise en évidence de lien de causalité mais seulement d'une association entre la présence de l'inflammation de la microcirculation et un sur-risque de dégradation de la fonction rénale. Comme toute étude rétrospective, certaines données étaient manquantes. Pour certaines données un retour aux dossiers informatisés permettait de récupérer les informations. Cependant, des données histologiques notamment comme les dépôts de C4d (75 données manquantes sur 350) ou la capillarite péri-tubulaire (10 biopsies) restent inconnues. Pour la même raison, 378 patients n'ont pu être inclus, car la recherche de DSA manquait à un an, au moment de la biopsie. Un des biais majeur de cette étude est le dépistage des DSA réalisé selon la pratique clinique locale au moment de la biopsie. Les patients les plus anciennement greffés n'avaient pas eu de dépistage de DSA par les techniques les plus sensibles (Luminex et FACS), cela peut constituer un biais important, c'est pourquoi nous avons testé l'année de greffe avant 2007 dans le modèle multivarié. Ces patients « historiques » étaient cependant peu nombreux.

Par ailleurs, pour étudier l'évolution de la fonction des greffons, nous avons utilisé la perte de clairance rénale, estimée par la formule MDRD. Son applicabilité à la greffe rénale est démontrée ⁶⁹, mais une imprécision relève du fait que nous n'avions pas accès à l'ethnie des patients nécessaire dans la formule MDRD. De plus, la formule MDRD est adaptée selon la technique de dosage de la créatinémie.

En outre, nous avons utilisé un modèle multivarié pour interpréter la pente de la fonction rénale, ce qui a permis de s'affranchir en partie des problèmes de comparabilité des groupes. Mais, malgré un effectif total de 350 patients dont 99 avaient des lésions d'inflammation de la microcirculation, de faibles effectifs sont analysés pour certaines variables. Certaines données, bien que non significatives statistiquement, sont alors « influentes », car elles

modifient le coefficient associé à l'inflammation de la microcirculation. Ces variables doivent être conservées dans le modèle multivarié. Cependant ces données influentes, en lien avec un effectif restreint, engendrent un manque de robustesse du modèle.

Enfin, l'interprétation des lésions histologiques bien que standardisée par la classification de Banff, reste subjective et dépendante de l'interprétation et de l'habitude de l'anatomopathologiste. L'évaluation recommandée jusque-là de la glomérulite, basée sur le pourcentage de glomérules atteints, avait la plus grande corrélation avec le pronostic des greffons⁵⁶. Du fait d'une mauvaise reproductibilité inter-observateurs, la définition de la glomérulite « g » a été modifiée lors de la dernière conférence de Banff en 2013⁶⁰. Elle prend désormais en compte la présence d'une occlusion ou quasi-occlusion de lumière capillaire par les cellules mononuclées et la turgescence endothéliale (*score de Mihatsch*), et bénéficie ainsi d'une meilleure reproductibilité, tout en restant bien corrélée au pronostic rénal. La reproductibilité de l'interprétation de la capillarite péritubulaire est également imparfaite⁴¹.

L'analyse histologique en microscopie électronique est recommandée dans de nombreuses situations cliniques par la conférence de Banff. Elle permet de rechercher des signes précoces de rejet humoral, tel un aspect de multi-lamellation des capillaires péritubulaires, conséquence de la capillarite qui serait un argument pour du rejet humoral⁶⁰.

6. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'inflammation de la microcirculation rénale, à un an de la greffe, en l'absence d'anticorps anti-HLA spécifique du donneur, s'associe de manière indépendante, en analyse multivariée, à une dégradation de la fonction du greffon à moyen terme. Ces lésions de la microcirculation s'accompagnent fréquemment de lésions aiguës tubulaires et interstitielles du greffon, mais étonnement de peu de dépôts de C4d péritubulaire.

Nous mettons en évidence que cette dégradation est progressive à bas bruit. Elle ne semble pas s'accompagner d'une perte rapide du greffon, car, deux ans après la biopsie, seulement un patient avait perdu son greffon dans les deux groupes, d'une cause infectieuse. Nous prévoyons de poursuivre le suivi de ces patients. Nombres de ces patients avaient tout juste atteint trois ou quatre ans de suivi. Il sera intéressant de suivre ces patients à 5 ans, sur la survie comme sur l'évolution de la fonction du greffon, pour observer une persistance de cette aggravation ou une éventuelle réversion. Batal⁵⁶ mettait en évidence un lien entre la glomérulite et la survie à partir de deux ans post-biopsie et d'une glomérulite à 2 au moins.

Par ailleurs, pour Kort²⁸, l'intensité du score g+cpt est corrélée à la survie rénale chez le patient ayant reçu une greffe HLA incompatible. Une intensité de l'inflammation de la microcirculation, avec un seuil à 2, est utilisée comme outil diagnostique du rejet humoral de la classification de Banff actuelle. Pour ces raisons, nous avons évalué la perte de fonction rénale des patients avec un score MI >1, pour mettre en évidence l'existence éventuelle d'une relation dose-effet entre ce score semi-quantitatif et la fonction rénale, qui corroborerait nos résultats actuels. Dans notre population de patients sans immunisation spécifique du donneur, deux tiers des patients avait un score à 1, 13 % un score à 2 et 14 % un score à 3 et plus. La pente de perte de fonction du greffon semble être plus importante mais cette différence n'atteint pas la significativité du fait de faibles effectifs.

En outre, il semble intéressant de rechercher une réaction humorale non détectée par les techniques utilisées. Une première vérification par les techniques de haute définition type Luminex®, permettrait de rechercher un anticorps anti-HLA non mis en évidence (notamment DP, Cw). Nous pourrions également mettre en évidence chez ces patients une immunisation de type non HLA.

Enfin, les progrès de la biologie moléculaire permettront certainement d'affiner le risque et le diagnostic de rejet du greffon et d'éviter ainsi les biopsies itératives, tout en permettant une adaptation thérapeutique précoce. Ces tests moléculaires permettraient dans notre cohorte d'affiner l'interprétation entre absence de rejet et type de rejet, afin de guider un éventuel traitement. Suthanthiran *et al.*⁷⁰ ont validé la prédiction du rejet cellulaire par un test urinaire combinant les ARN messagers de CD3ε, l'interferon-inducible protein 10 et l'ARN ribosomal 18S. Sur le versant humoral du rejet de greffe, la génétique apporte également de nouveaux outils diagnostiques. Le niveau d'expression ENDAT sur des biopsies de greffons, font maintenant partie intégrante des critères diagnostiques du rejet aigu humoral^{37,60}.

7. ANNEXES

7.1.1. *Annexe 1: Protéinurie*

	Totale N=350	MI+ N=99	MI- N=251	Données manquantes	p-value
PROTEINURIE DES 24H					
- à 1 an (77/189)	0,3 ± 0,4	0,3 ± 0,6	0,3 ± 0,4	84	0,5927
- à 3 ans (68/167)	0,3 ± 0,3	0,3 ± 0,3	0,3 ± 0,5	114	0,5643
- à 5 ans (28/83)	0,5 ± 1,3	0,9 ± 1,9	0,3 ± 0,9	179	0,1238

7.1.2. Annexes 2A : Fonction rénale selon la présence de MI

	Totale N=350	MI+ N=99	MI- N=251	Données manquantes	p-value
Créatininémie (μmol/l)					
- à 1 an (MI+ 99/ MI-251)	124,2±36,2	120,7±38,5	125,6±35,2	0	0,2687
- à 3 ans (98/251)	131,9±50,0	134,3±61,9	131,0±44,6	1	0,6409
- à 5 ans (44/151)	138,4±75,4	147,9±107,2	135,6±63,4	95 / 60 NA	0,4748
DFG estimé par MDRD (ml/min/1.73m2)					
- à 1 an (MI+ 99/ MI-251)	57,4±17,2	59,1±19,2	56,8±16,3	0	0,2838
- à 3 ans (98 /251)	55,4±19,7	55,6±22,1	55,4±18,7	1	0,9288
- à 5 ans (44/151)	54,3±22,7	52,9±23,3	54,7±22,6	95 / 60 NA	0,6429
Delta DFG (ml/min)					
- à 3 ans (98 /251)	-1,99±13,5	-3,61±15,4	-1,35±12,7	0	0,1622
- à 5 ans (44/151)	-2,64±16,7	-8,33±18,7	-1,05±15,8	95 / 60 NA	0,0142
Pente de DGF/an entre 1 et 3 ans	-1 ± 6,8	-1,8 ± 7,6	-0,7 ± 6,4	1	0,2224

7.1.3. Annexe 2B : Fonction rénale selon l'intensité du score MI

	MI>1 N=29	MI- N=251	Données manquantes	p-value
DFG estimé par MDRD (ml/min/1.73m2)				
- à 1 an (29/251)	61,06±23,00	56,8±16,3	0	0,4054
- à 3 ans (29/251)	54,99±26,81	55,4±18,7	1	0,6454
- à 5 ans (18/151)	52,57±27,16	54,7±22,6	111	0,5366
Delta DFG (ml/min)				
- à 3 ans (29/251)	-6,074±19,07	-1,35±12,7	0	0,2611
- à 5 ans (18/151)	-10,16±22,07	-1,05±15,8	111	0,0463

7.1.4. Annexe 3 : Analyse univariée de la pente de perte de DFG

Le beta 0 correspond à la pente moyenne de DGF/an pour le groupe de référence. Le beta 1 correspond au changement moyen de la pente moyenne de DGF/an pour le groupe étudié.

Donc beta 0 + beta 1 est la pente moyenne chez les patients de la modalité concernée.

	beta0	p-value 0	beta1	p-value 1
Age du receveur (années)	-1,55 ± 1,48	0,2946	0,01 ± 0,03	0,6970
Receveur masculin	-2,01 ± 0,65	0,0022	1,46 ± 0,78	0,0628
Antécédents du receveur				
- d'hypertension	-0,24 ± 1,35	0,8612	-0,82 ± 1,40	0,5611
- de diabète	-0,41 ± 0,42	0,3308	-2,05 ± 0,80	0,0103
- cardiovasculaire	-0,61 ± 0,45	0,1725	-1,12 ± 0,76	0,1410
Immunisation à la greffe				
- anti-HLA classe I +	-1,07 ± 0,41	0,0089	0,21 ± 0,96	0,8311
- anti-HLA classe II +	-1,31 ± 0,40	0,0010	1,39 ± 1,07	0,1951
Seconde ou troisième greffe	-1,12 ± 0,38	0,0031	1,64 ± 1,35	0,2262
Greffe Rein-Pancréas	-0,61 ± 0,40	0,1284	-1,97 ± 0,91	0,0307
Greffe avant 2007	-0,42 ± 0,43	0,3306	-1,87 ± 0,78	0,0166
Age du donneur	-1,67 1,17	0,1535	0,01 ± 0,02	0,5432
Donneur masculin	-0,72 ± 0,57	0,2050	-0,46 ± 0,74	0,5306
Au moins 5 incompatibilités ABDR	-0,90 ± 0,40	0,0264	-0,55 ± 0,94	0,5602
Temps d'ischémie froide (heures)	-1,27 ± 0,87	0,1442	0,02 ± 0,04	0,7279
Traitement par induction déplétante	-0,84 ± 0,46	0,0708	-0,41 ± 0,74	0,5854
Retard au démarrage du greffon	-1,04 ± 0,41	0,0115	0,20 ± 0,88	0,8181
Episode de rejet aigu avant 1 an	-1,13 ± 0,42	0,0069	0,56 ± 0,85	0,5122
Corticoïdes à 1 an	-1,69 ± 0,80	0,0344	0,88 ± 0,89	0,3273
Immunisation à 1 an				
- anti-HLA classe I +	-1,13 ± 0,37	0,0027	2,05 ± 1,45	0,1605
- anti-HLA classe II +	-0,99 ± 0,38	0,0092	-0,05 ± 1,31	0,9725
Histologie à 1 an				
Inflammation microcirculation soit g ≥ 1 ou cpt ≥ 1	-0,70 ± 0,43	0,1029	-1,06 ± 0,80	0,1872
C4d positif	-0,92 ± 0,42	0,0289	-4,48 ± 2,10	0,0336
i ≥ 1 ou t ≥ 1	-0,98 ± 0,42	0,0189	-0,06 ± 0,85	0,9419
ci+ct>2	-0,83 ± 0,41	0,0433	-0,91 ± 0,88	0,3024
Existence d'une FI/AT	-0,29 ± 0,53	0,5784	-1,05 ± 0,71	0,1377

7.1.5. *Annexe 4 : modèle multivarié avec C4d (n=260)*

	Coefficient ± Ecart type	p-value
Inflammation microcirculation	-1,8080±1,0768	0,9352
g ≥ 1 ou cpt ≥ 1		
C4d	-4,0772±2,0879	0,0519
Intercept	-0,0599±0,7359	0,9352
Greffe Rein-Pancréas	-1,7374±1,0895	0,1120
Immunisation anti-HLA classe II + à la greffe	1,5686±1,2731	0,2190
Existence d'une FIAT	-0,5990±0,8792	0,4963
i ≥ 1 ou t ≥ 1	0,0348±1,0879	0,9745

8. REFERENCES

1. Michon, L. *et al.* [An attempted kidney transplantation in man: medical and biological aspects]. *Presse Médicale* **61**, 1419–1423 (1953).
2. Port, F. K., Wolfe, R. A., Mauger, E. A., Berling, D. P. & Jiang, K. Comparison of survival probabilities for dialysis patients vs cadaveric renal transplant recipients. *Jama J. Am. Med. Assoc.* **270**, 1339–1343 (1993).
3. Wolfe, R. A. *et al.* Comparison of Mortality in All Patients on Dialysis, Patients on Dialysis Awaiting Transplantation, and Recipients of a First Cadaveric Transplant. *N. Engl. J. Med.* **341**, 1725–1730 (1999).
4. Anglicheau, D. *et al.* Transplantation rénale : réalisation et complications. *Emc - Néphrologie* **1**, 1–19 (2006).
5. Meier-Kriesche, H.-U., Schold, J. D., Srinivas, T. R. & Kaplan, B. Lack of improvement in renal allograft survival despite a marked decrease in acute rejection rates over the most recent era. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **4**, 378–383 (2004).
6. Webster, A., Woodroffe, R. C., Taylor, R. S., Chapman, J. R. & Craig, J. C. Tacrolimus versus cyclosporin as primary immunosuppression for kidney transplant recipients. *Cochrane Database Syst. Rev.* CD003961 (2005).
7. Gaston, R. S. *et al.* Evidence for antibody-mediated injury as a major determinant of late kidney allograft failure. *Transplantation* **90**, 68–74 (2010).
8. Einecke, G. *et al.* Antibody-mediated microcirculation injury is the major cause of late kidney transplant failure. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **9**, 2520–2531 (2009).
9. Rush, D. N., Henry, S. F., Jeffery, J. R., Schroeder, T. J. & Gough, J. Histological findings in early routine biopsies of stable renal allograft recipients. *Transplantation* **57**, 208–211 (1994).
10. Gloor, J. M. *et al.* Histologic findings one year after positive crossmatch or ABO blood group incompatible living donor kidney transplantation. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **6**, 1841–1847 (2006).
11. Loupy, A. *et al.* Outcome of subclinical antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients with preformed donor-specific antibodies. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **9**, 2561–2570 (2009).
12. Haas, M. *et al.* Subclinical acute antibody-mediated rejection in positive crossmatch

renal allografts. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **7**, 576–585 (2007).

13. El-Amm, J.-M. & Gruber, S. A. The significance of subclinical rejection. *Clin. Transplant.* **23**, 150–156 (2009).

14. Bruel, A. *et al.* Early protocol biopsies in pediatric renal transplantation: interest for the adaptation of immunosuppression. *Pediatr. Transplant.* **18**, 142–149 (2014).

15. Kurtkoti, J. *et al.* The utility of 1- and 3-month protocol biopsies on renal allograft function: a randomized controlled study. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **8**, 317–323 (2008).

16. Németh, D. *et al.* Does borderline kidney allograft rejection always require treatment? *Transplantation* **90**, 427–432 (2010).

17. Lefaucheur, C. *et al.* Antibody-mediated vascular rejection of kidney allografts: a population-based study. *Lancet* **381**, 313–319 (2013).

18. Racusen, L. C. *et al.* The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int.* **55**, 713–723 (1999).

19. De Freitas, D. G. *et al.* The nature of biopsies with ‘borderline rejection’ and prospects for eliminating this category. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **12**, 191–201 (2012).

20. Beimler, J. & Zeier, M. Borderline rejection after renal transplantation--to treat or not to treat. *Clin. Transplant.* **23 Suppl 21**, 19–25 (2009).

21. Lefaucheur, C. *et al.* Preexisting donor-specific HLA antibodies predict outcome in kidney transplantation. *J. Am. Soc. Nephrol. Jasn* **21**, 1398–1406 (2010).

22. Zou, Y., Stastny, P., Süsal, C., Döhler, B. & Opelz, G. Antibodies against MICA antigens and kidney-transplant rejection. *N. Engl. J. Med.* **357**, 1293–1300 (2007).

23. Giral, M. *et al.* Pretransplant sensitization against angiotensin II type 1 receptor is a risk factor for acute rejection and graft loss. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **13**, 2567–2576 (2013).

24. Loupy, A., Hill, G. S. & Jordan, S. C. The impact of donor-specific anti-HLA antibodies on late kidney allograft failure. *Nat. Rev. Nephrol.* **8**, 348–357 (2012).

25. Farkash, E. A. & Colvin, R. B. Diagnostic challenges in chronic antibody-mediated rejection. *Nat. Rev. Nephrol.* **8**, 255–257 (2012).

26. Wiebe, C. *et al.* Evolution and clinical pathologic correlations of de novo donor-specific HLA antibody post kidney transplant. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **12**, 1157–1167 (2012).

27. Hourmant, M. *et al.* Frequency and clinical implications of development of donor-specific and non-donor-specific HLA antibodies after kidney transplantation. *J. Am. Soc. Nephrol. Jasn* **16**, 2804–2812 (2005).
28. De Kort, H. *et al.* Microcirculation inflammation associates with outcome in renal transplant patients with de novo donor-specific antibodies. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **13**, 485–492 (2013).
29. Hidalgo, L. G. *et al.* De novo donor-specific antibody at the time of kidney transplant biopsy associates with microvascular pathology and late graft failure. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **9**, 2532–2541 (2009).
30. Sellarés, J. *et al.* Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **12**, 388–399 (2012).
31. Racusen, L. C. *et al.* Antibody-mediated rejection criteria - an addition to the Banff 97 classification of renal allograft rejection. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **3**, 708–714 (2003).
32. Solez, K. *et al.* Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **8**, 753–760 (2008).
33. Sis, B. *et al.* Banff '09 meeting report: antibody mediated graft deterioration and implementation of Banff working groups. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **10**, 464–471 (2010).
34. Solez, K. *et al.* International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: the Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int.* **44**, 411–422 (1993).
35. Mengel, M. *et al.* Banff 2011 Meeting report: new concepts in antibody-mediated rejection. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **12**, 563–570 (2012).
36. Haas, M. *et al.* Banff 2013 meeting report: inclusion of c4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **14**, 272–283 (2014).
37. Sis, B. *et al.* Endothelial gene expression in kidney transplants with alloantibody indicates antibody-mediated damage despite lack of C4d staining. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **9**, 2312–2323 (2009).
38. Hidalgo, L. G. *et al.* NK cell transcripts and NK cells in kidney biopsies from patients

with donor-specific antibodies: evidence for NK cell involvement in antibody-mediated rejection. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **10**, 1812–1822 (2010).

39. Sis, B. *et al.* A new diagnostic algorithm for antibody-mediated microcirculation inflammation in kidney transplants. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **12**, 1168–1179 (2012).

40. Tinckam, K. J., Djurdjev, O. & Magil, A. B. Glomerular monocytes predict worse outcomes after acute renal allograft rejection independent of C4d status. *Kidney Int.* **68**, 1866–1874 (2005).

41. Gibson, I. W. *et al.* Peritubular capillaritis in renal allografts: prevalence, scoring system, reproducibility and clinicopathological correlates. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **8**, 819–825 (2008).

42. Feucht, H. E. *et al.* Vascular deposition of complement-split products in kidney allografts with cell-mediated rejection. *Clin. Exp. Immunol.* **86**, 464–470 (1991).

43. Loupy, A. *et al.* Significance of C4d Banff scores in early protocol biopsies of kidney transplant recipients with preformed donor-specific antibodies (DSA). *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **11**, 56–65 (2011).

44. Haas, M. & Mirocha, J. Early ultrastructural changes in renal allografts: correlation with antibody-mediated rejection and transplant glomerulopathy. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **11**, 2123–2131 (2011).

45. Hayde, N. *et al.* The clinical and molecular significance of C4d staining patterns in renal allografts. *Transplantation* **95**, 580–588 (2013).

46. Naesens, M. *et al.* Chronic Histological Damage in Early Indication Biopsies Is an Independent Risk Factor for Late Renal Allograft Failure. *Am. J. Transplant.* **13**, 86–99 (2013).

47. Bagnasco, S., Kraus, E. & Sis, B. Diagnostic criteria for kidney transplant rejection: a call to action. *Lancet* **381**, 1458 (2013).

48. Hayde, N. *et al.* The Clinical and Genomic Significance of Donor-Specific Antibody-Positive/C4d-Negative and Donor-Specific Antibody-Negative/C4d-Negative Transplant Glomerulopathy. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol. Cjasn* (2013).

49. Buob, D. *et al.* Three-year outcome of isolated glomerulitis on 3-month protocol biopsies of donor HLA antibody negative patients. *Transpl. Int. Off. J. Eur. Soc. Organ Transplant.* **25**, 663–670 (2012).

50. Levey, A. S. *et al.* A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from

serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann. Intern. Med.* **130**, 461–470 (1999).

51. Fahim, T. *et al.* The cellular lesion of humoral rejection: predominant recruitment of monocytes to peritubular and glomerular capillaries. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **7**, 385–393 (2007).
52. Loupy, A. *et al.* Complement-binding anti-HLA antibodies and kidney-allograft survival. *N. Engl. J. Med.* **369**, 1215–1226 (2013).
53. Colvin, R. B. Antibody-mediated renal allograft rejection: diagnosis and pathogenesis. *J. Am. Soc. Nephrol. Jasn* **18**, 1046–1056 (2007).
54. Valujskikh, A. & Heeger, P. S. Emerging roles of endothelial cells in transplant rejection. *Curr. Opin. Immunol.* **15**, 493–498 (2003).
55. Baldwin III, W. M., Larsen, C. P. & Fairchild, R. L. Innate Immune Responses to Transplants: A Significant Variable with Cadaver Donors. *Immunity* **14**, 369–376 (2001).
56. Batal, I. *et al.* A critical appraisal of methods to grade transplant glomerulitis in renal allograft biopsies. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **10**, 2442–2452 (2010).
57. Magil, A. B. Infiltrating cell types in transplant glomerulitis: relationship to peritubular capillary C4d deposition. *Am. J. Kidney Dis. Off. J. Natl. Kidney Found.* **45**, 1084–1089 (2005).
58. Richardson, W. P. *et al.* Glomerulopathy associated with cytomegalovirus viremia in renal allografts. *N. Engl. J. Med.* **305**, 57–63 (1981).
59. Celik, B. & Randhawa, P. S. Glomerular changes in BK virus nephropathy. *Hum. Pathol.* **35**, 367–370 (2004).
60. Haas, M. *et al.* Banff 2013 meeting report: inclusion of c4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **14**, 272–283 (2014).
61. Dragun, D. *et al.* Angiotensin II type 1-receptor activating antibodies in renal-allograft rejection. *N. Engl. J. Med.* **352**, 558–569 (2005).
62. Lefaucheur, C. *et al.* Determinants of poor graft outcome in patients with antibody-mediated acute rejection. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **7**, 832–841 (2007).
63. Sharif, A. *et al.* Histologic Phenotype on 1-Year Posttransplantation Biopsy and Allograft Survival in HLA-Incompatible Kidney Transplants. *Transplantation* (2014).
64. Bagnasco, S. M. *et al.* Time Course of Pathologic Changes in Kidney Allografts of

Positive Crossmatch HLA-Incompatible Transplant Recipients. *Transplantation* **97**, 440–445 (2014).

65. Willicombe, M. *et al.* Acute cellular rejection: impact of donor-specific antibodies and c4d. *Transplantation* **97**, 433–439 (2014).

66. Akalin, E. *et al.* Transplant glomerulopathy may occur in the absence of donor-specific antibody and C4d staining. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol. Cjasn* **2**, 1261–1267 (2007).

67. Bachelet, T. *et al.* Kidney intragraft donor-specific antibodies as determinant of antibody-mediated lesions and poor graft outcome. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **13**, 2855–2864 (2013).

68. Herzenberg, A. M., Gill, J. S., Djurdjev, O. & Magil, A. B. C4d deposition in acute rejection: an independent long-term prognostic factor. *J. Am. Soc. Nephrol. Jasn* **13**, 234–241 (2002).

69. Fauvel, J.-P., Hadj-Aissa, A., Buron, F., Morelon, E. & Ducher, M. Performance of estimated glomerular filtration rates to monitor change in renal function in kidney transplant recipients. *Nephrol. Dial. Transplant. Off. Publ. Eur. Dial. Transpl. Assoc. - Eur. Ren. Assoc.* **28**, 3096–3100 (2013).

70. Suthanthiran, M. *et al.* Urinary-cell mRNA profile and acute cellular rejection in kidney allografts. *N. Engl. J. Med.* **369**, 20–31 (2013).

**LESIONS D'INFLAMMATION DE LA MICROCIRCULATION RENALE ISOLEES
SUR UNE BIOPSIE PROTOCOLAIRE A 1 AN DE LA GREFFE,
ET FONCTION RENALE À MOYEN TERME, DES TRANSPLANTES RENAUX**

RESUME

Le défi actuel de la transplantation rénale réside dans la prévention de glomérulopathie d'allogreffe qui grève le pronostic des greffons. Nous avons évalué l'impact des lésions d'inflammation microvasculaire, glomérulite et capillarite à 12 mois de la greffe, en absence de DSA concomitant, sur la fonction rénale à moyen terme. 350 patients greffés entre le 1^{er} janvier 2001 et 2011, issus des centres Necker, Lyon et Nantes, ont été inclus. Après ajustement sur les facteurs de confusion en analyse multivariée, nous constatons que la pente annuelle de diminution de la fonction rénale, chez les patients ayant une inflammation de la microcirculation rénale, est plus élevée d'en moyenne 1.92 ml/min/1.73m², par rapport aux patients n'ayant pas d'inflammation de la microcirculation. L'inflammation de la microcirculation s'accompagnait d'une augmentation des lésions interstitielles et tubulaires aiguës et des lésions glomérulopathie d'allogreffe.

MOTS-CLES

Transplantation rénale - Biopsie de greffon - Inflammation de la microcirculation -
Glomérulite - Capillarite - Rejet infraclinique