



**HAL**  
open science

# Le rejet humoral en transplantation rénale à Nancy : 1er décembre 2003-31 mai 2005

Assétou Diarrassouba

► **To cite this version:**

Assétou Diarrassouba. Le rejet humoral en transplantation rénale à Nancy : 1er décembre 2003-31 mai 2005. Sciences du Vivant [q-bio]. 2007. hal-01739006

**HAL Id: hal-01739006**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01739006v1>**

Submitted on 20 Mar 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## AVERTISSEMENT

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

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

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

Contact : [ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

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

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

**THESE**  
Pour obtenir le grade de  
**DOCTEUR EN MEDECINE**

Présentée et soutenue publiquement  
Dans le cadre du troisième cycle de médecine spécialisée

Par  
**DIARRASSOUBA Assétou**

Le 27 avril 2007

**LE REJET HUMORAL EN TRANSPLANTATION RENALE  
A NANCY**

**1<sup>er</sup> décembre 2003 – 31 mai 2005**

Examineurs de la thèse :

Mme M. Kessler	Professeur		Présidente
Mme M.-C. Béné	Professeur	}	
Mme D. Hestin	Professeur	}	
Mme C. André-Botté	Docteur en médecine	}	juges
Mme J. Champigneulle	Docteur en médecine	}	
Mr. M. Ladrière	Docteur en médecine	}	

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1

FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANCY

-----  
**Président de l'Université : Professeur Jean-Pierre FINANCE**

**Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Patrick NETTER**

**Vice-Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Henry COUDANE**

**Assesseurs :**

du 1<sup>er</sup> Cycle :

**M. le Docteur François ALLA**

du 2<sup>ème</sup> Cycle :

**M. le Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI**

du 3<sup>ème</sup> Cycle :

**M. le Professeur Marc BRAUN**

de la Vie Facultaire :

**M. le Professeur Bruno LEHEUP**

**DOYENS HONORAIRES**

Professeur Adrien DUPREZ – Professeur Jean-Bernard DUREUX

Professeur Jacques ROLAND

=====  
**PROFESSEURS HONORAIRES**

Jean LOCHARD – René HERBEUVAL – Gabriel FAIVRE – Jean-Marie FOLIGUET

Guy RAUBER – Paul SADOUL – Raoul SENAULT

Jacques LACOSTE – Jean BEUREY – Jean SOMMELET – Pierre HARTEMANN – Emile de LAVERGNE

Augusta TREHEUX – Michel MANCIAUX – Paul GUILLEMIN – Pierre PAYSANT

Jean-Claude BURDIN – Claude CHARDOT – Jean-Bernard DUREUX – Jean DUHEILLE – Jean-Pierre GRILLIAT

Jean-Marie GILGENKRANTZ – Simone GILGENKRANTZ

Pierre ALEXANDRE – Robert FRISCH – Michel PIERSON – Jacques ROBERT

Gérard DEBRY – Pierre TRIDON – Michel WAYOFF – François CHERRIER – Oliéro GUERCI

Gilbert PERCEBOIS – Claude PERRIN – Jean PREVOT – Jean FLOQUET

Alain GAUCHER – Michel LAXENAIRE – Michel BOULANGE – Michel DUC – Claude HURIET – Pierre LANDES

Alain LARCAN – Gérard VAILLANT – Daniel ANTHOINE – Pierre GAUCHER – René-Jean ROYER

Hubert UFFHOLTZ – Jacques LECLERE – Francine NABET – Jacques BORRELLY

Michel RENARD – Jean-Pierre DESCHAMPS – Pierre NABET – Marie-Claire LAXENAIRE – Adrien DUPREZ – Paul VERT

Philippe CANTON – Bernard LEGRAS – Pierre MATHIEU – Jean-Marie POLU – Antoine RASPILLER – Gilbert THIBAUT

Michel WEBER – Gérard FIEVE – Daniel SCHMITT – Colette VIDAILHET – Alain BERTRAND – Hubert GERARD

Jean-Pierre NICOLAS – Francis PENIN – Michel STRICKER – Daniel BURNEL – Michel VIDAILHET – Claude BURLET –

Jean-Pierre DELAGOUTTE – Jean-Pierre MALLIÉ – Danièle SOMMELET

=====  
**PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS  
PRATICIENS HOSPITALIERS**

(Disciplines du Conseil National des Universités)

**42<sup>ème</sup> Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Anatomie)**

Professeur Jacques ROLAND – Professeur Gilles GROSDIDIER

Professeur Pierre LASCOMBES – Professeur Marc BRAUN

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Cytologie et histologie)**

Professeur Bernard FOLIGUET

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Anatomie et cytologie pathologiques)**

Professeur François PLENAT – Professeur Jean-Michel VIGNAUD

-----  
**43<sup>ème</sup> Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Biophysique et médecine nucléaire)**

Professeur Gilles KARCHER – Professeur Pierre-Yves MARIE – Professeur Pierre OLIVIER

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Radiologie et imagerie médicale)**

Professeur Luc PICARD – Professeur Denis REGENT – Professeur Michel CLAUDON

Professeur Serge BRACARD – Professeur Alain BLUM – Professeur Jacques FELBLINGER

Professeur René ANXIONNAT

**44<sup>ème</sup> Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)**

Professeur Jean-Louis GUÉANT – Professeur Jean-Luc OLIVIER

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Physiologie)**

Professeur Jean-Pierre CRANCE

Professeur François MARCHAL – Professeur Philippe HAOUZI

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Nutrition)**

Professeur Olivier ZIEGLER

-----

**45<sup>ème</sup> Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière)**

Professeur Alain LOZNIIEWSKI

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Parasitologie et mycologie)**

Professeur Bernard FORTIER

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Maladies infectieuses ; maladies tropicales)**

Professeur Thierry MAY – Professeur Christian RABAUD

-----

**46<sup>ème</sup> Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Épidémiologie, économie de la santé et prévention)**

Professeur Philippe HARTEMANN – Professeur Serge BRIANÇON

Professeur Francis GUILLEMIN – Professeur Denis ZMIROU-NAVIER

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Médecine et santé au travail)**

Professeur Guy PETIET – Professeur Christophe PARIS

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Médecine légale et droit de la santé)**

Professeur Henry COUDANE

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication)**

Professeur François KOHLER – Professeur Éliane ALBUISSON

-----

**47<sup>ème</sup> Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Hématologie ; transfusion)**

Professeur Christian JANOT – Professeur Thomas LECOMPTE – Professeur Pierre BORDIGONI

Professeur Pierre LEDERLIN – Professeur Jean-François STOLTZ – Professeur Pierre FEUGIER

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Cancérologie ; radiothérapie)**

Professeur François GUILLEMIN – Professeur Thierry CONROY

Professeur Pierre BEY – Professeur Didier PEIFFERT

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Immunologie)**

Professeur Gilbert FAURE – Professeur Marie-Christine BENE

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Génétique)**

Professeur Philippe JONVEAUX – Professeur Bruno LEHEUP

-----

**48<sup>ème</sup> Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE,  
PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Anesthésiologie et réanimation chirurgicale)**

Professeur Claude MEISTELMAN – Professeur Dan LONGROIS – Professeur Hervé BOUAZIZ

Professeur Paul-Michel MERTES

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Réanimation médicale)**

Professeur Henri LAMBERT – Professeur Alain GERARD

Professeur Pierre-Édouard BOLLAERT – Professeur Bruno LÉVY

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique)**

Professeur Patrick NETTER – Professeur Pierre GILLET

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Thérapeutique)**

Professeur François PAILLE – Professeur Gérard GAY – Professeur Faiez ZANNAD

-----

**49<sup>ème</sup> Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE,  
HANDICAP et RÉÉDUCATION**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Neurologie)**

Professeur Gérard BARROCHE – Professeur Hervé VESPIGNANI

Professeur Xavier DUCROCQ

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Neurochirurgie)**

Professeur Jean-Claude MARCHAL – Professeur Jean AUQUE

Professeur Thierry CIVIT

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Psychiatrie d'adultes)**

Professeur Jean-Pierre KAHN – Professeur Raymund SCHWAN

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Pédopsychiatrie)**

Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC

**5<sup>ème</sup> sous-section : (Médecine physique et de réadaptation)**

Professeur Jean-Marie ANDRE

-----

**50<sup>ème</sup> Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE et CHIRURGIE PLASTIQUE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Rhumatologie)**

Professeur Jacques POUREL – Professeur Isabelle VALCKENAERE – Professeur Damien LOEUILLE

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie orthopédique et traumatologique)**

Professeur Daniel MOLE

Professeur Didier MAINARD – Professeur François SIRVEAUX – Professeur Laurent GALOIS

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Dermato-vénérologie)**

Professeur Jean-Luc SCHMUTZ – Professeur Annick BARBAUD

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique)**

Professeur François DAP

-----

**51<sup>ème</sup> Section : PATHOLOGIE CARDIORESPIRATOIRE et VASCULAIRE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Pneumologie)**

Professeur Yves MARTINET – Professeur Jean-François CHABOT – Professeur Ari CHAOUAT

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Cardiologie)**

Professeur Etienne ALIOT – Professeur Yves JUILLIERE – Professeur Nicolas SADOUL

Professeur Christian de CHILLOU

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie thoracique et cardiovasculaire)**

Professeur Jean-Pierre VILLEMOT

Professeur Jean-Pierre CARTEAUX – Professeur Loïc MACE

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire)**

-----

**52<sup>ème</sup> Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF et URINAIRE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Gastroentérologie ; hépatologie)**

Professeur Marc-André BIGARD

Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie digestive)**

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Néphrologie)**

Professeur Michèle KESSLER – Professeur Dominique HESTIN (Mme) – Professeur Luc FRIMAT

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Urologie)**

Professeur Philippe MANGIN – Professeur Jacques HUBERT – Professeur Luc CORMIER

-----

**53<sup>ème</sup> Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Médecine interne)**

Professeur Denise MONERET-VAUTRIN – Professeur Denis WAHL

Professeur Jean-Dominique DE KORWIN – Professeur Pierre KAMINSKY

Professeur Athanase BENETOS – Professeur Gisèle KANNY – Professeur Abdelouahab BELLOU

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie générale)**

Professeur Patrick BOISSEL – Professeur Laurent BRESLER

Professeur Laurent BRUNAUD

-----

**54<sup>ème</sup> Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE,  
ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Pédiatrie)**

Professeur Pierre MONIN

Professeur Jean-Michel HASCOET – Professeur Pascal CHASTAGNER – Professeur François FEILLET –

Professeur Cyril SCHWEITZER

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie infantile)**

Professeur Michel SCHMITT – Professeur Gilles DAUTEL – Professeur Pierre JOURNEAU

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale)**

Professeur Michel SCHWEITZER – Professeur Jean-Louis BOUTROY

Professeur Philippe JUDLIN – Professeur Patricia BARBARINO – Professeur Bruno DEVAL

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Endocrinologie et maladies métaboliques)**

Professeur Georges WERYHA – Professeur Marc KLEIN – Professeur Bruno GUERCI

-----

**55<sup>ème</sup> Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Oto-rhino-laryngologie)**

Professeur Claude SIMON – Professeur Roger JANKOWSKI

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Ophtalmologie)**

Professeur Jean-Luc GEORGE – Professeur Jean-Paul BERROD – Professeur Karine ANGIOI-DUPREZ

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie)**

Professeur Jean-François CHASSAGNE

=====

**PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS**

**64<sup>ème</sup> Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE**

Professeur Sandrine BOSCHI-MULLER

=====

**MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS**

**42<sup>ème</sup> Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Anatomie)**

Docteur Bruno GRIGNON – Docteur Thierry HAUMONT

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Cytologie et histologie)**

Docteur Edouard BARRAT

Docteur Françoise TOUATI – Docteur Chantal KOHLER

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Anatomie et cytologie pathologiques)**

Docteur Béatrice MARIE

Docteur Laurent ANTUNES

-----

**43<sup>ème</sup> Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Biophysique et médecine nucléaire)**

Docteur Marie-Hélène LAURENS – Docteur Jean-Claude MAYER

Docteur Pierre THOUVENOT – Docteur Jean-Marie ESCANYE – Docteur Amar NAOUN

-----

**44<sup>ème</sup> Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)**

Docteur Jean STRACZEK – Docteur Sophie FREMONT

Docteur Isabelle GASTIN – Docteur Bernard NAMOUR – Docteur Marc MERTEN – Docteur Catherine MALAPLATE-ARMAND

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Physiologie)**

Docteur Gérard ETHEVENOT – Docteur Nicole LEMAU de TALANCE – Docteur Christian BEYAERT

Docteur Bruno CHENUÉL

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Nutrition)**

Docteur Didier QUILLIOT – Docteur Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT

-----

**45<sup>ème</sup> Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière)**

Docteur Francine MORY – Docteur Christine LION

Docteur Michèle DAILLOUX – Docteur Véronique VENARD

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Parasitologie et mycologie)**

Docteur Marie-France BIAVA – Docteur Nelly CONTET-AUDONNEAU – Docteur Marie MACHOUART

-----

**46<sup>ème</sup> Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Epidémiologie, économie de la santé et prévention)**

Docteur François ALLA – Docteur Alexis HAUTEMANIÈRE

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication)**

Docteur Pierre GILLOIS

-----

**47<sup>ème</sup> Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Hématologie ; transfusion)**

Docteur François SCHOONEMAN

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Immunologie)**

Docteur Anne KENNEL

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Génétique)**

Docteur Christophe PHILIPPE

-----

**48<sup>ème</sup> Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE,  
PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Anesthésiologie et réanimation chirurgicale)**

Docteur Jacqueline HELMER – Docteur Gérard AUDIBERT

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique)**

Docteur Françoise LAPICQUE – Docteur Marie-José ROYER-MORROT – Docteur Nicolas GAMBIER

-----

**49<sup>ème</sup> Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP ET  
RÉÉDUCATION**

**5<sup>ème</sup> sous-section : (Médecine physique et de réadaptation)**

Docteur Jean PAYSANT

-----

**54<sup>ème</sup> Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE,  
ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**

**5<sup>ème</sup> sous-section : (Biologie et médecine du développement et de la reproduction)**

Docteur Jean-Louis CORDONNIER

=====

**MAÎTRES DE CONFÉRENCES**

**5<sup>ème</sup> section : SCIENCE ÉCONOMIE GÉNÉRALE**

Monsieur Vincent LHUILLIER

-----

**40<sup>ème</sup> section : SCIENCES DU MÉDICAMENT**

Monsieur Jean-François COLLIN

-----

**60<sup>ème</sup> section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE ET GÉNIE CIVILE**

Monsieur Alain DURAND

-----

**61<sup>ème</sup> section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL**

Monsieur Jean REBSTOCK – Monsieur Walter BLONDEL



**64<sup>ème</sup> section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE**

Mademoiselle Marie-Claire LANHERS

Monsieur Franck DALIGAULT

-----

**65<sup>ème</sup> section : BIOLOGIE CELLULAIRE**

Mademoiselle Françoise DREYFUSS – Monsieur Jean-Louis GELLY

Madame Ketsia HESS – Monsieur Pierre TANKOSIC – Monsieur Hervé MEMBRE

-----

**67<sup>ème</sup> section : BIOLOGIE DES POPULATIONS ET ÉCOLOGIE**

Madame Nadine MUSSE

-----

**68<sup>ème</sup> section : BIOLOGIE DES ORGANISMES**

Madame Tao XU-JIANG

=====

**MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS**

**Médecine Générale**

Professeur associé Alain AUBREGE

Docteur Francis RAPHAEL

Docteur Jean-Marc BOIVIN

=====

**PROFESSEURS ÉMÉRITES**

Professeur Michel BOULANGE – Professeur Alain LARCAN – Professeur Michel WAYOFF – Professeur Daniel ANTHOINE

Professeur Hubert UFFHOLTZ – Professeur Adrien DUPREZ – Professeur Paul VERT

Professeur Jean PREVOT – Professeur Jean-Pierre GRILLIAT – Professeur Philippe CANTON – Professeur Pierre MATHIEU

Professeur Gilbert THIBAUT – Professeur Daniel SCHMITT – Mme le Professeur Colette VIDAILHET

Professeur Jean FLOQUET – Professeur Claude CHARDOT – Professeur Michel PIERSON – Professeur Alain BERTRAND

Professeur Daniel BURNEL – Professeur Jean-Pierre NICOLAS – Professeur Michel VIDAILHET –

Professeur Marie-Claire LAXENAIRE – Professeur Claude PERRIN – Professeur Jean-Marie GILGENKRANTZ –

Mme le Professeur Simone GILGENKRANTZ – Professeur Jean-Pierre DELAGOUTTE

=====

**DOCTEURS HONORIS CAUSA**

Professeur Norman SHUMWAY (1972)

*Université de Stanford, Californie (U.S.A)*

Professeur Paul MICHIELSEN (1979)

*Université Catholique, Louvain (Belgique)*

Professeur Charles A. BERRY (1982)

*Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)*

Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)

*Brown University, Providence (U.S.A)*

Professeur Mamish Nisbet MUNRO (1982)

*Massachusetts Institute of Technology (U.S.A)*

Professeur Mildred T. STAHLMAN (1982)

*Wanderbilt University, Nashville (U.S.A)*

Harry J. BUNCKE (1989)

*Université de Californie, San Francisco (U.S.A)*

Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)

*Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)*

Professeur Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS (1996)

*Université de Pennsylvanie (U.S.A)*

Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)

*Research Institute for Mathematical Sciences de Kyoto (JAPON)*

Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)

*Université d'Helsinki (FINLANDE)*

Professeur James STEICHEN (1997)

*Université d'Indianapolis (U.S.A)*

Professeur Duong Quang TRUNG (1997)

*Centre Universitaire de Formation et de Perfectionnement des*

*Professionnels de Santé d'Hô Chi Minh-Ville (VIËTNAM)*

**A notre Maître et Présidente de thèse**

Madame le Professeur M. Kessler

Professeur de Néphrologie

Chevalier dans l'ordre des Palmes Académiques

Vous nous avez confié le sujet de cette thèse et nous faites le grand honneur d'accepter de la présider.

Nous vous remercions pour la sollicitude et le soutien que vous nous avez prodigué pendant toute la durée de notre internat.

Nous avons pu bénéficier de la richesse de votre enseignement et de vos conseils.

Veillez trouver dans ce travail le témoignage de notre profond respect et l'expression de notre gratitude.

**A notre maître et juge**

Madame le Professeur M.- C. Béné

Professeur d'Immunologie biologique

Nous vous adressons l'expression de nos sentiments reconnaissants et nos remerciements pour l'intérêt que vous avez bien voulu témoigner à ce travail par ce travail par votre présence dans ce jury.

**A notre maître et juge**

Madame le Professeur D. Hestin

Professeur de Néphrologie

Nous vous remercions pour le soutien que vous nous avez  
témoigné tout au long de notre internat.

Nous vous sommes reconnaissants d'avoir accepté de juger ce  
travail.

## **A notre maître et juge**

Monsieur le Docteur M. Ladrière

Docteur en Néphrologie

Nous vous remercions pour le soutien et la patience dont vous avez fait preuve à notre égard tout au long de notre internat.

Nous vous remercions pour la qualité de votre enseignement tant théorique que pratique, notamment au cours de notre passage dans les différents secteurs d'hospitalisation.

Nous vous remercions d'avoir grandement contribué à l'élaboration de nos différents travaux de mémoire et de thèse.

Enfin, nous vous sommes reconnaissants d'avoir accepté de juger ce travail.

**A notre maître et juge**

Madame le Docteur Champigneulle

Docteur en Anatomopathologie

Nous vous sommes très reconnaissants pour l'enseignement prodigué au cours de notre internat en matière de pathologie rénale.

Nous vous remercions pour l'intérêt que vous avez porté à nos différents travaux et projets.

Nous vous sommes reconnaissants d'avoir accepté de juger notre travail

**A notre maître et juge**

Madame le Docteur C. André-Botté

Etablissement Français du Sang

Nous vous sommes très reconnaissants pour votre fructueuse participation à l'élaboration de notre travail de thèse.

Nous vous remercions d'avoir accepté d'être membre de ce jury.

A monsieur le Professeur Frimat pour sa disponibilité tout au long de notre internat.

A messieurs et mesdames les médecins du service de néphrologie de Nancy

A monsieur le Dr Bindi et madame le Dr Gilson du service de néphrologie de Verdun

A mes co-internes pour leur patience

A ma famille

A mes amis.



## SERMENT

"Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque".

# I. IMMUNOLOGIE ET TRANSPLANTATION RENALE 14

<b>A. Introduction : généralités concernant la transplantation rénale.....</b>	<b>14</b>
<b>B. Le rejet d'allogreffe rénale : aspects cliniques (4) .....</b>	<b>16</b>
1. Le rejet hyperaigu.....	16
2. Le rejet aigu.....	17
a) Le rejet aigu à médiation cellulaire (4).....	17
(1) Quelques remarques concernant les lésions histologiques élémentaires du rejet aigu cellulaire dans la classification de Banff.....	18
(2) Cas particuliers des rejets aigus cellulaires infra-cliniques.....	19
(3) Diagnostic différentiel du rejet aigu d'allogreffe à médiation cellulaire.....	19
b) Le rejet aigu à médiation humorale .....	22
c) Le rejet chronique humoral.....	25
<b>C. Physiopathologie du rejet d'allogreffe.....</b>	<b>26</b>
1. La réponse alloimmune à médiation cellulaire .....	26
a) La reconnaissance directe .....	26
b) La reconnaissance indirecte .....	26
c) Le récepteur du lymphocyte (12) T .....	27
2. La réponse alloimmune à médiation humorale.....	29
a) Génération des anticorps spécifiques antidonneurs (16).....	30
b) Fondements de la coopération entre les cellules B et T lors de la réponse humorale .....	31
c) Spécificité antigénique des alloanticorps anti-donneurs .....	32
(a) Le système HLA.....	33
(b) Les antigènes des groupes sanguins ABO.....	35
(c) Les protéines MICA/MICB (23, 24, 25).....	36
(d) Autres antigènes susceptibles d'induire une réponse alloimmune .....	37
(2) Conséquence de la liaison antigène-anticorps.....	38
(a) Généralités.....	38
(b) Le complément.....	39
(c) La cytotoxicité dépendante des anticorps.....	41
<b>D. Prévention du rejet d'allogreffe : crossmatch et traitements immunosuppresseurs .....</b>	<b>42</b>
1. Typage HLA et dépistage des anticorps anti-HLA avant transplantation chez les patients inscrits sur liste d'attente.....	42
2. Respect des règles classiques d'allocation des greffons (33) .....	42
3. Le crossmatch (34, 11) .....	42
a) Technique de crossmatch par microlymphocytotoxicité :.....	42

b)	Technique de crossmatch par ELISA ( enzyme-linked immunoabsorbent assay) .....	43
c)	Technique de crossmatch par cytométrie de flux.....	43
4.	Les traitements immunosuppresseurs (39, 40, 41, 42, 43).....	44
a)	Base des différentes stratégies immunosuppressives : modèle des 3 signaux d'activation lymphocytaire T .....	44
b)	Les corticostéroïdes .....	44
c)	Les inhibiteurs de la calcineurine .....	45
d)	L'acide mycophénolique : mycophénolate mofetil et mycophénolate sodique .....	45
e)	Les inhibiteurs de mTOR : sirolimus et everolimus .....	46
f)	Les anticorps monoclonaux .....	46
g)	Les nouvelles drogues immunosuppressives .....	47
<b>E.</b>	<b>Diagnostic de rejet humoral : alloanticorps et dépôts de C4d dans les capillaires péritubulaires .....</b>	<b>47</b>
1.	Les alloanticorps en transplantation rénale.....	47
a)	Alloanticorps et physiopathologie des différentes présentations cliniques du rejet humoral en transplantation rénale .....	49
(1)	Le rejet hyperaigu .....	49
(2)	Le rejet humoral aigu .....	50
(3)	Le rejet chronique .....	50
b)	Dépôts de C4d dans les capillaires péritubulaires en transplantation rénale.....	52
(1)	Prévalence des dépôts de C4d.....	53
(2)	Histopathologie .....	54
(3)	Méthodes de détection .....	55
(4)	Génération des dépôts de C4d.....	57
(a)	Relation alloanticorps anti-donneur et dépôts de C4d dans les capillaires péritubulaires .....	57
(b)	Dépôts de C4d dans le rejet d'allogreffe hépatique, cardiaque, ou pulmonaire. (58).....	58
<b>F.</b>	<b>Le rejet humoral : tolérance et désensibilisation .....</b>	<b>59</b>
1.	Induction d'un microchimérisme.....	59
2.	Protocoles de désensibilisation .....	59
<b>II.</b>	<b>TRANSPLANTATION RENALE A NANCY DU 1<sup>ER</sup> DECEMBRE 2003 AU 31 MAI 2005.....</b>	<b>61</b>
<b>A.</b>	<b>Généralités concernant l'activité de transplantation rénale durant la période d'étude au sein du service de néphrologie du CHU de Nancy.....</b>	<b>61</b>
1.	Sélection des receveurs.....	61
2.	Le bilan pré-greffe des receveurs .....	61
3.	Sélection des greffons.....	61

4.	Critères d'allocations et agence de biomédecine .....	61
5.	Technique chirurgicale : .....	62
6.	Aspects immunologiques.....	62
7.	Aspects thérapeutiques : stratégies d'immunosuppression .....	62
a)	Indication de traitement d'induction :.....	62
b)	Immunosuppression d'entretien.....	63
c)	Traitement des épisodes de rejet aigu, en fonction du grade selon la classification de Banff.....	64
d)	Evolution immédiate en post-greffe.....	64
(1)	Reprise différée de la fonction du greffon .....	64
(2)	Complications immunologiques.....	64
8.	Les rejets aigus précoces et tardifs .....	64
9.	Suivi des anticorps anti-HLA .....	66
<b>B.</b>	<b>Descriptifs des patients ayant présenté des dépôts significatifs de C4d dans les capillaires péritubulaires .....</b>	<b>67</b>
<b>C.</b>	<b>Patients ayant développé une immunisation significative dans le système HLA en pré et surtout post- greffe par la technique de détection ELISA. ....</b>	<b>78</b>
<b>D.</b>	<b>Patients ayant développé une immunisation significative après greffe, détectée par microlymphocytotoxicité.....</b>	<b>90</b>
<b>E.</b>	<b>Diagnostic de rejet humoral .....</b>	<b>102</b>
<b>III.</b>	<b>DISCUSSION .....</b>	<b>105</b>
<b>IV.</b>	<b>CONCLUSION .....</b>	<b>113</b>
<b>V.</b>	<b>ANNEXE 1 .....</b>	<b>114</b>
	Technique de détection des dépôts de C4d sur les biopsies de greffons rénaux au laboratoire d'anatomo- pathologie du CHU de Nancy.....	114
<b>VI.</b>	<b>ANNEXE 2 .....</b>	<b>115</b>
	Critères de validité des prélèvements histologiques.....	115
<b>VII.</b>	<b>ANNEXE III .....</b>	<b>116</b>
	Stades de l'insuffisance rénale chronique selon l'H.A.S.....	116

VIII. BIBLIOGRAPHIE ..... 117

# I. IMMUNOLOGIE ET TRANSPLANTATION RENALE

## ***A. Introduction : généralités concernant la transplantation rénale***

Depuis la première transplantation rénale réalisée à Paris en 1952, les progrès ont été considérables concernant les modalités de réanimation des donneurs cadavériques, les techniques chirurgicales, les traitements immunosuppresseurs, ainsi qu'au plan théorique avec une meilleure connaissance de l'immunologie de greffe. Ces progrès ont permis un allongement de la durée de vie moyenne des greffons.

En effet, le devenir du transplant chez le receveur à moyen et long terme est en partie déterminé par la réaction immunologique de ce dernier vis-à-vis des antigènes du donneur. La principale entrave à la transplantation demeure donc les différences concernant les systèmes d'histocompatibilité en dépit des nouvelles drogues immunosuppressives.

On décrit plusieurs systèmes d'histocompatibilités :

- le système du groupe sanguin ABO fortement antigénique
- le complexe majeur d'histocompatibilité (HLA)
- les antigènes mineurs d'histocompatibilités : superantigènes, ou peptides associés à des molécules CMH du donneur (présentation directe) ou du receveur (présentation indirecte)
- les protéines MICA/MICB

Ces systèmes d'histocompatibilité sont à l'origine des réactions de rejets, complications immunologiques de la transplantation, suspectée cliniquement et biologiquement, puis confirmée en histologie.

D'un point de vue clinique, on décrit différents types de rejet : hyperaigu, aigu et chronique.

Historiquement (1) le rejet d'allogreffe était attribué à la seule immunité cellulaire, les stigmates de la réponse humorale, alloanticorps et complément, n'étant pas immédiatement accessibles par les techniques conventionnelles, et ceux de la réponse cellulaire, étant les seuls visibles en histologie : infiltrat lymphocytaire tubulo-interstitiel et/ou vasculaire. Ce concept dominant était par ailleurs conforté par le succès relatif des thérapies dirigées contre les cellules T.

Pour autant, l'alloimmunité humorale n'était pas totalement méconnue puisqu'elle est à l'origine du rejet hyperaigu, premier obstacle que dû surmonter la transplantation d'organes, et qu'elle constitue encore un frein à la xénotransplantation (2)

Le rejet humoral, suscite un intérêt grandissant non seulement en transplantation rénale, mais aussi, en greffe cardiaque, hépatique et pulmonaire (3)

D'un point de vue immunologique, on décrit le rejet cellulaire d'une part, le rejet humoral d'autre part, faisant appel respectivement aux immunités à médiation cellulaire et humorale, toutes deux pouvant se manifester sur un mode aigu ou chronique.

Notre propos s'attachant plus ici à la description du rejet humoral, dans une première partie, nous effectuerons un rappel concernant le système HLA en premier lieu impliqué dans

la réaction de rejet d'allogreffe. Nous décrivons également les réponses alloimmunes cellulaire et humorale en transplantation d'organe ainsi que les principes généraux des différentes modalités de prévention : détection des anticorps anti-HLA chez les patients inscrits sur liste d'attente de greffe, les différentes techniques de crossmatch, les mécanismes d'action des différentes drogues immunosuppressives.

Dans une seconde partie, nous tenterons de décrire l'incidence du rejet humoral sur l'activité de greffe rénale du CHU de Nancy entre le 1<sup>er</sup> décembre 2003 et le 31 mai 2005.

A la lumière des résultats obtenus, nous tenterons de voir dans quelle mesure ils pourraient nous permettre d'optimiser notre prise en charge diagnostique, notre suivi des greffons mais aussi notre stratégie immunosuppressive.

## **B. Le rejet d'allogreffe rénale : aspects cliniques (4)**

Conséquence de la différence entre les systèmes d'histocompatibilité du donneur et du receveur le rejet aigu d'allogreffe rénale, est prévenu par le traitement immunosuppresseur, il est d'abord suspecté sur une association de signes cliniques et biologiques :

- Fièvre, tachycardie
- Augmentation du volume du transplant
- hypertension artérielle
- diminution de la diurèse des 24 heures ou non reprise de diurèse
- élévation de la créatininémie même modeste
- diminution de la natriurèse

Le rejet aigu peut toutefois être parfaitement asymptomatique, ne se manifestant alors que par des signes biologiques, en particulier, l'élévation de la créatininémie.

Il nécessite au préalable que soient éliminés les autres causes de dysfonction du greffon :

- obstacles sur les voies excréto-urinaires
- complications vasculaires
- néphrotoxicité des anticalcineurines
- nécrose tubulaire aiguë (d'origine ischémique)

Selon le délai de survenue par rapport à la greffe, on distingue :

- le rejet hyperaigu
- le rejet aigu précoce ou tardif
- le rejet chronique

Leurs mécanismes sont différents bien que résultant tous des différences existant entre les systèmes d'histocompatibilité des donneurs et des receveurs.

### **1. Le rejet hyperaigu**

Il correspond à la perte du greffon immédiatement après le rétablissement des anastomoses vasculaires ou dans les 72 heures qui suivent la transplantation. Il résulte de la présence chez le receveur d'anticorps cytotoxiques préformés dirigés contre des antigènes du donneur présents sur le greffon.

On observe cliniquement une interruption de la production d'urines, le greffon rénal devenant macroscopiquement cyanotique, oedématié.

Le rejet hyperaigu est actuellement rare du fait du recours, systématique en transplantation humaine, au crossmatch, juste avant greffe, permettant de dépister de tels anticorps. Lorsque ce test est positif notamment vis-à-vis des cellules T, il constitue une contre-indication à la greffe. Notons qu'il constitue toujours un obstacle pour les xénotransplantations compte tenu de la présence d'anticorps naturels dirigés contre Gal alpha 1,3 Gal carbohydrate (2)

En histologie, au microscope optique, le rejet hyperaigu se traduit par une thrombose étendue, du fait d'aggrégats plaquettaires, affectant de façon prédominante, les artères, les artérioles et les capillaires glomérulaires. Des polynucléaires neutrophiles sont fréquemment décrits au sein des thrombi. Des hémorragies interstiellles peuvent aussi être observées (3). En immunofluorescence, on retrouve des dépôts d'immunoglobulines G, M, de fraction C3 du



complément et de fibrine au sein des parois capillaires et artérielles. Des dépôts de fibrine sont également présents au niveau des thrombi. Une analyse en microscopie électronique des lésions précoces retrouverait une dégénérescence et une nécrose précoce de l'endothélium vasculaire.

Si le greffon n'est pas enlevé dans les 24 heures, il s'ensuit une nécrose cellulaire étendue avec de multiples zones d'infarctissements corticaux et médullaires.

Les principaux diagnostics différentiels du rejet hyperaigu sont :

- la non fonction primaire liée à des lésions irréversibles du donneur
- lésions induites par des agglutinines froides de type IgM dirigés contre des antigènes du groupe sanguin
- récurrence de syndrome hémolytique et urémique ou microangiopathie thrombotique induite par les anticalcineurines.

Ces situations ne surviennent habituellement pas en post-greffe immédiat

## **2. Le rejet aigu**

Correspondant à une dysfonction aiguë du greffon potentiellement réversible, par renforcement du traitement immunosuppresseur, ce terme désignait historiquement la réaction de rejet aigu à médiation cellulaire, se distinguant du rejet aigu à médiation humorale, identifié de façon plus récente.

### **a) Le rejet aigu à médiation cellulaire (4)**

Le rejet aigu à médiation cellulaire, se présente soit sous une forme tubulo-interstitielle soit sous une forme vasculaire. Il est fréquemment corticosensible.

En microscopie optique, les premières anomalies sont observées dans l'interstitium sous la forme d'un infiltrat lymphocytaire et d'un œdème diffus. On retrouve peu de monocytes ou de cellules plasmocytaires. Les polynucléaires éosinophiles sont habituellement absents de même que les polynucléaires neutrophiles. Les capillaires péritubulaires peuvent être dilatés, gorgés de lymphocytes en cours de migration vers l'interstitium. Les lésions de tubulite résultent de l'afflux des lymphocytes et des monocytes vers la paroi et la lumière des tubules rénaux. Cet afflux entraîne une dégénérescence des cellules épithéliales. La membrane basale tubulaire peut également être altérée. Notons que cette tubulite n'a de signification qu'en l'absence d'atrophie tubulaire préexistence dans les zones concernées

La forme vasculaire du rejet aigu à médiation cellulaire se traduit par une infiltration de lymphocytes et monocytes au sein de l'endothélium artériel plus rarement la couche musculuse artérielle. Les cellules endothéliales peuvent être « desquamées », vacuolisées, cependant les lésions de nécrose pariétale ne sont pas observées dans ce type de rejet.

Il existe enfin une troisième forme de rejet aigu à médiation cellulaire : il s'agit de la glomérulopathie aiguë du transplant résultant d'un afflux de monocytes et de lymphocytes dans la lumière des capillaires glomérulaires ainsi que dans le mésangium.

En immunofluorescence, on observe des dépôts de fibrine dans l'interstitium. Des dépôts segmentaires linéaires ou granuleux d'immunoglobulines G, de C3 ou de fibrine sont observés dans la paroi des capillaires glomérulaires.

La sévérité des lésions imputables au rejet aigu à médiation cellulaire est à l'origine de la classification de Banff, qui depuis 1993 a connu plusieurs modifications afin d'intégrer les nouvelles données physiopathologiques.

La classification des lésions de rejet aigu repose en partie sur une analyse semi-quantitative. En effet, tandis que les aspects histologiques de base pour poser le diagnostic de rejet aigu cellulaire sont la tubulite et l'artérite, l'estimation du degré d'inflammation interstitielle est nécessaire pour définir le grade du rejet.

#### **-Histologie du rejet aigu d'allogreffe rénale : la classification de Banff 1993-**

**Stade 1a** : infiltrat interstitiel significatif (>25% du parenchyme concerné) et foyers de tubulite lymphocytaire modérée (>4 lymphocytes par section tubulaire ou groupe de 10 cellules tubulaires)

**Stade 1b** : infiltrat interstitiel significatif (>25% du parenchyme concerné) et foyers de tubulite lymphocytaire sévère (>10 lymphocytes par section tubulaire ou groupe de 10 cellules tubulaires)

**Stade 2a** : présence d'une artérite intimale modérée

**Stade 2b** : artérite intimale sévère avec réduction >25% de la lumière artériolaire.

**Stade 3** : artérite transmurale et/ou nécrose fibrinoïde associée à une inflammation lymphocytaire

L'on peut dès à présent noter que selon la classification de Banff modifiée, les rejets de stade 2 parfois, et plus fréquemment le type 3 peuvent comporter une composante humorale (4).

Concernant la nature de l'infiltrat, il est classiquement constitué de cellules T ou de façon plus large de cellules mononucléées. S'il comporte de 5 à 10% d'éosinophiles de polynucléaires neutrophiles ou de cellules plasmocytaires, un diagnostic différentiel doit être envisagé, à savoir une réaction d'hypersensibilité ou une infection. La qualité de l'infiltrat doit donc être analysé en fonction du contexte clinique ; ainsi en cas de diminution de l'immunosuppression, on observe un infiltrat essentiellement constitué de plasmocytes.

*(1) Quelques remarques concernant les lésions histologiques élémentaires du rejet aigu cellulaire dans la classification de Banff*

#### **La tubulite lymphocytaire**

Pour être significative les lésions de tubulite doivent être caractérisées en dehors des zones d'atrophie tubulaire modérée à sévère, avec réduction de calibre de plus de 50%, puisqu'un infiltrat cellulaire de l'épithélium tubulaire est régulièrement observée dans de telles zones et sur reins natifs, ne pouvant en conséquence être considérée comme une réponse spécifique à un alloantigène.

La classification des lésions de tubulite a connu quelques évolutions :

Selon Banff 93-95, le grade de la tubulite était défini par le nombre de monocytes, le plus important, ayant franchi la membrane basale tubulaire, infiltrant l'épithélium et résidant entre ou au voisinage des cellules tubulaires, et ce, par section tubulaire. En cas de section longitudinale du tubule, les résultats peuvent être exprimés par champ de 10 cellules tubulaires. Selon la modification de CCTT, cette tubulite significative doit se situer au niveau de la zone comportant l'infiltrat inflammatoire le plus important.

Enfin, la classification de Banff 97 (6), exige en sus que la tubulite soit présente sur plusieurs sites.

### **L'atteinte artérielle**

Selon les classifications de Banff 93-95, mais aussi 1999 (CCTT) il faut opérer une distinction entre l'artérite intimale, correspondant à un infiltrat lymphocytaire au voisinage de l'endothélium, de l'inflammation de la média avec nécrose pariétale vasculaire.

### **L'atteinte glomérulaire**

La glomérulite, élément décrit, dans les classifications de Banff 93-95 et CCTT, n'est pas stricto sensu un critère de rejet cellulaire, sa signification est controversée.

La glomérulite est gradée selon l'infiltrat en cellules mononucléées, l'élargissement des cellules endothéliales, le pourcentage de glomérule impliqués, et le caractère global ou segmentaire du processus dans les glomérules impliqués. Dans la classification de Banff 97 la glomérulite est gradée de g1 à g3. Dans la classification CCTT, la glomérulite peut-être absente, focale, ou sévère

### *(2) Cas particuliers des rejets aigus cellulaires infra-cliniques*

L'attitude vis-à-vis des rejets aigus cellulaires infracliniques (le plus souvent avec atteinte tubulaire seule) n'est pas univoque ; il en va de même pour les rejets aigus « borderlines » (tubulite lymphocytaire n'excédant pas 4 lymphocytes par section tubulaire). La décision de traiter ou non est alors fonction de l'expérience du centre, du traitement d'entretien, de la date de la transplantation, et d'autres critères cliniques et histologiques.

### *(3) Diagnostic différentiel du rejet aigu d'allogreffe à médiation cellulaire*

De nombreuses pathologies peuvent constituer un diagnostic différentiel. Ainsi la présence de polynucléaires neutrophiles dans l'interstitium et/ou dans la lumière tubulaire peut signifier une infection bactérienne, des lésions d'ischémie ou une zone d'infarcissement (qui peut être secondairement en rapport avec un rejet). Notons que si les polynucléaires neutrophiles sont confinés dans les capillaires péri-tubulaires ou glomérulaires la possibilité d'un rejet à médiation humorale doit être évoqué. Enfin la présence de nombreux polynucléaires éosinophiles doit faire évoquer comme diagnostic différentiel, une possible réaction d'hypersensibilité.

Les infections virales doivent également être évoquées en cas d'infiltrat inflammatoire monocyttaire, associé à une tubulite. La biopsie doit alors être analysée soigneusement afin de mettre en évidence des aspects cytopathogènes tels que des inclusions cellulaires cytomégaliennes, des inclusions intra-nucléaires ou intra-cytoplasmiques. En cas de haute suspicion clinique et histologique, l'immunohistochimie et l'hybridation in situ peuvent permettre d'identifier l'agent causal. Il peut s'agir du cytomégalovirus, du BK virus ou de l'adénovirus.

Les plasmocytes peuvent également être une composante de l'infiltrat inflammatoire en cas de rejet, mais elles peuvent également signifier une infection. Si ces cellules plasmiques sont associées à un infiltrat inflammatoire agressif, expansif et refoulant les structures normales en particulier, si elles sont atypiques, il faut évoquer un désordre lymphoprolifératif post-transplantation. La distinction entre un rejet aigu sévère et un désordre lymphoprolifératif EBV-induit est cruciale car les sanctions thérapeutiques sont opposées : réduction de l'immunosuppression en cas de désordres lymphoprolifératifs, renforcement de ce même traitement en cas de rejet aigu sévère.

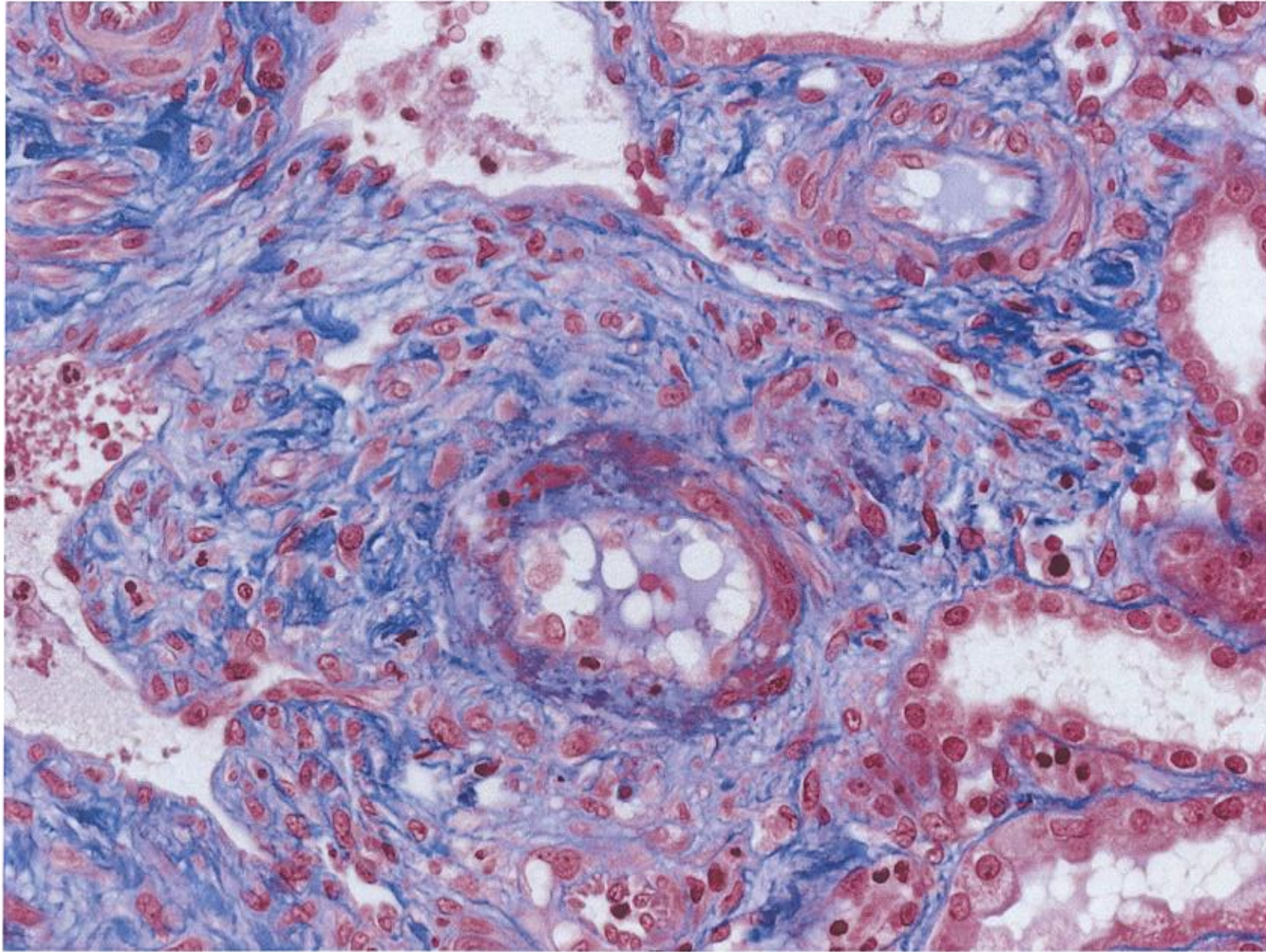
Les désordres lymphoprolifératifs montrent typiquement un infiltrat nodulaire de monocytes ou expansif avec des foyers irréguliers ou de la nécrose serpiginieuse. Les lésions induites par ces désordres lymphoprolifératifs peuvent être focales ou diffuses ; elles peuvent intéresser le tissu adipeux péri-calciculaire et le tissu nerveux. L'infiltrat présente des lymphocytes à différents stades de différenciation : immunoblastes, cellules plasmiques, grandes cellules clivées et non clivées et petits lymphocytes ronds. Des cellules avec des atypies nucléaires marquées sont habituellement présentes permettant le diagnostic différentiel avec le rejet.

Une tubulite peut également être observée en cas de désordre lymphoprolifératif. De sorte que hémopathie EBV-induite et rejet peuvent coexister sur une même biopsie. Le plus souvent, le diagnostic final requiert les résultats de l'immunophénotypage et de l'hybridation in situ au virus d'Epstein-Barr.

Le plus souvent, lorsqu'il s'agit d'une lymphoprolifération, ces deux techniques retrouvent des cellules B EBV positives (CD20+), tandis qu'en cas de rejet aigu cellulaire, les cellules sont de type T EBV négatives (CD3+)

La toxicité des anticalcineurines peut également constituer un diagnostic différentiel : la toxicité aiguë se manifeste par une vacuolisation tubulaire distale ou proximale, des lésions des capillaires glomérulaires et artérioles rénales. Au long cours, un traitement par tacrolimus peut entraîner des dépôts hyalins artériolaires éosinophiles comportant de la fibrine, des dépôts d'IgM, de C3 ou de C1q rendant difficile la distinction avec ceux résultant de l'âge, de l'hypertension ou du diabète. Une vacuolisation des myocytes artériolaires peut-être observée, mais ne doit être attribuée à la toxicité du tacrolimus qu'après exclusion des autres causes.

ci-contre : illustration n°1. Analyse en microscopie optique de lésions de nécrose fibrinoïde pariétale au niveau d'une artériole, par comparaison avec une artériole saine sur une biopsie de greffon rénal siège d'un rejet aigu humoral (patient nancéen)



## b) Le rejet aigu à médiation humorale

**Le rejet aigu à médiation humorale**, (que nous évoquerons ultérieurement plus longuement).

Bien que reconnue de longue date dans le rejet hyper aigu, en transplantation ABO incompatible et en xénotransplantation, l'implication des mécanismes humoraux dans le rejet aigu d'allogreffe suscita peu d'attention, jusque dans les années 1980(7). C'est à cette époque que des travaux, menés par l'équipe de Jeannet, associèrent la présence d'anticorps *de novo* spécifiques anti-donneurs à une mauvaise survie du greffon. De tels anticorps cytotoxiques dirigés contre les molécules HLA notamment de classe 1 du donneur seraient retrouvés dans 20 à 30% des épisodes de rejets selon les séries, lesquels épisodes de rejets auraient une évolution clinique plus péjorative.

Ce sont les travaux de Feucht, au début des années 1990, qui permirent d'identifier les dépôts de la fraction C4d du complément le long des capillaires péri-tubulaires comme stigmate d'un rejet médié par les anticorps. Seule une fixation linéaire et diffuse du C4d au niveau de la membrane basale de plus de la moitié des capillaires péri-tubulaires est considérée comme significative (8). Ce type de fixation n'est d'ailleurs jamais observée en conditions pathologiques hormis en cas de lupus, vascularite à ANCA, ou de syndrome de Goodpasture. Le diagnostic différentiel étant alors relativement aisé.

### Critères diagnostiques du rejet humoral

1. **Lésions tissulaires aiguës** : nécrose tubulaire, dilatation des capillaires péri-tubulaires gorgés de polynucléaires neutrophiles et/ou cellules mononucléées, glomérulite à polynucléaires neutrophiles, thrombose capillaire, artérite intimale, nécrose fibrinoïde, inflammation artérielle intra-ou transmurale.
2. **Dépôts de C4d** et /ou d'immunoglobulines dans les capillaires péri-tubulaires.
3. **Présence d'anticorps anti-donneur** de type HLA ou non.

L'on peut d'ores et déjà, apporté quelques commentaires à cette définition, et notamment souligner le fait que dans 43 à 60% des cas les signes de rejet humoral sont associés à des signes de rejet aigu cellulaire (présence d'une tubulite lymphocytaire); l'évolution est alors comparable à celle d'un rejet humoral et nécessite donc un traitement agressif.

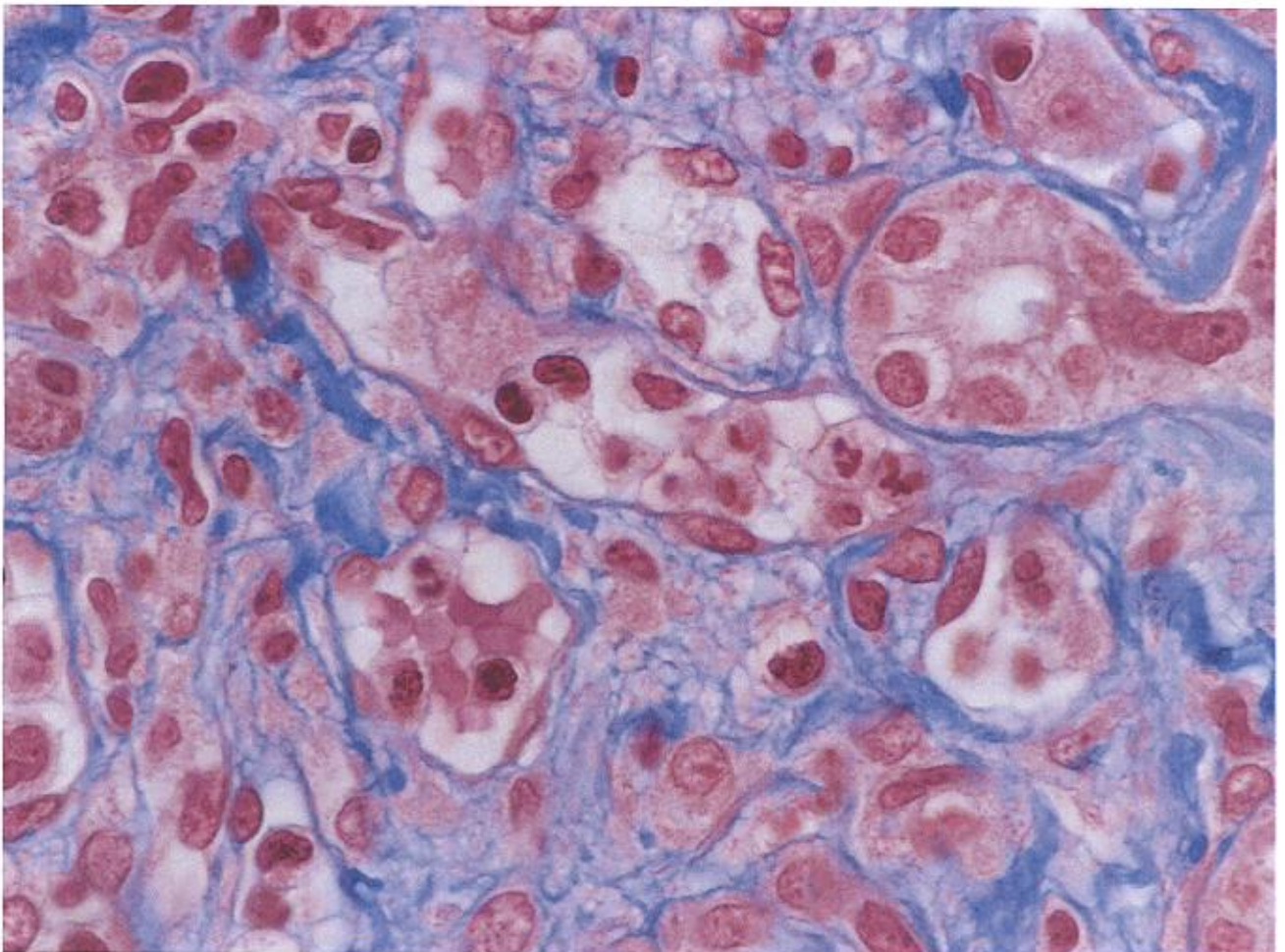
La description du rejet aigu humoral est à l'origine de la révision de la classification de Banff 1997

## Classification de Banff 1997

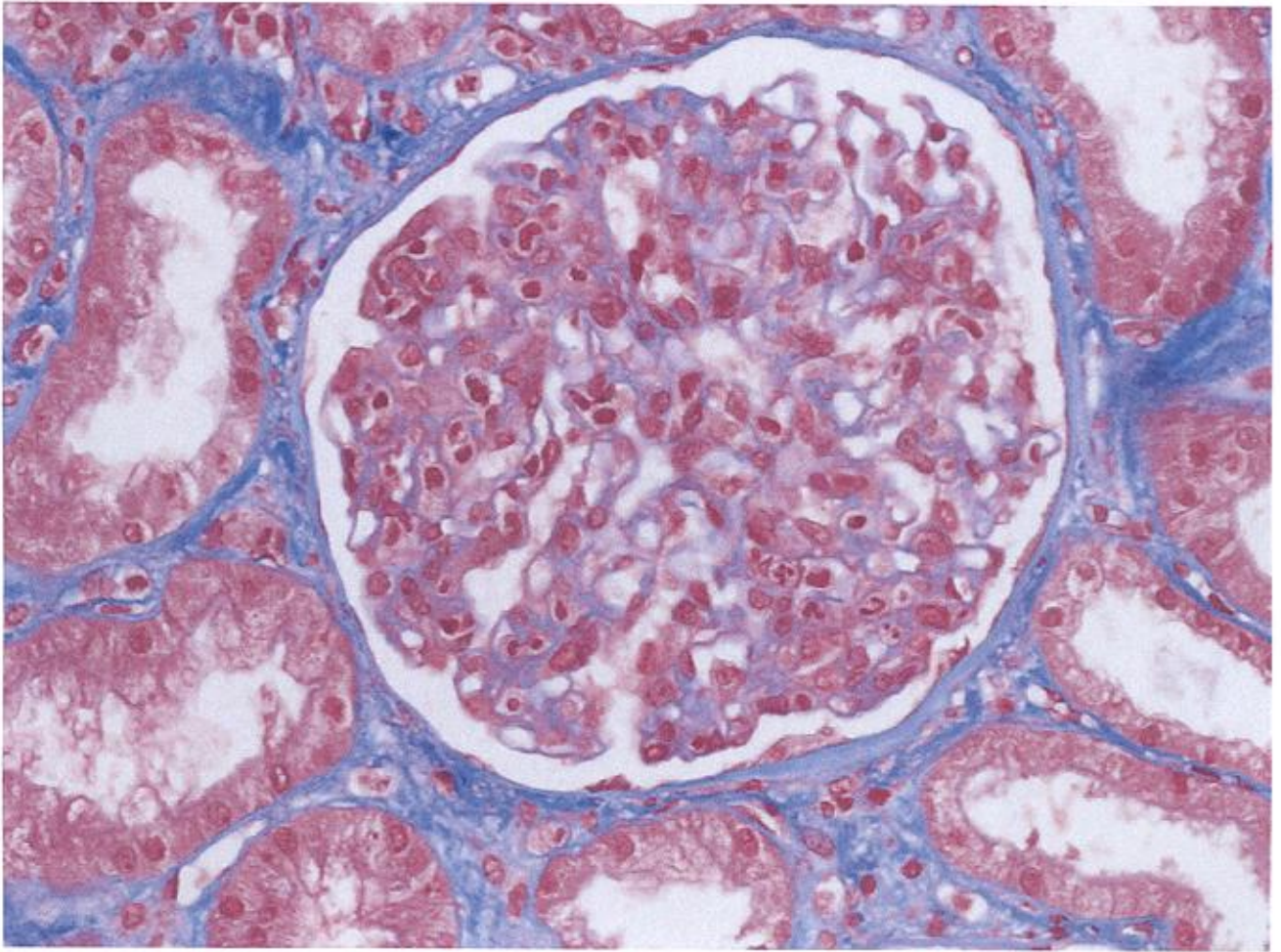
Grade		critères
Rejet humoral aigu	I	Dépôts de C4d et nécrose tubulaire
	II	Dépôts de C4d, capillarite à PNN et/ou thrombose
	III	Dépôts de C4d, artérite transmurale et/ou nécrose fibrinoïde
Rejet cellulaire aigu	I	Inflammation interstitielle (>25% du parenchyme) et tubulite (>4 lymphocytes par section tubulaire)
	II	Artérite intimale modérée à sévère
	III	Artérite intimale et ou nécrose fibrinoïde lymphocytaire
Néphropathie chronique d'allogreffe	I	Fibrose interstitielle discrète et atrophie tunulaire
	II	Fibrose interstitielle modérée et atrophie tubulaire
	III	Fibrose interstitielle sévère et atrophie tubulaire

« Handbook for Transplantation » G.M. Danovitch

**Illustration n°2:** coupe en microscopie optique d'une biopsie de greffon rénal siège d'un rejet aigu humoral. Capillarite à polynucléaires neutrophiles: aspect congestif des capillaires, engorgés par un afflux de lymphocytes et de polynucléaires neutrophiles. (patient nancéen)



**Illustration n°3:** coupe en microscopie optique d'une biopsie de greffon rénal siège d'un rejet aigu humoral. Glomérulite à polynucléaires neutrophiles, (patient nancéen)





### c) Le rejet chronique humoral

Le rejet chronique humoral proprement dit peut se définir devant l'association des signes suivants :

1. Signes cliniques de dysfonction chronique du greffon
2. Signes histologiques de rejet chronique :
  - endartérite fibroproliférative ;
  - glomérulopathie d'allogreffe associée à une duplication de la membrane des capillaires péri-tubulaires
  - fibrose atrophie/tubulaire ;
3. Dépôts significatifs de C4d au niveau de capillaires péri-tubulaires
4. Présence d'anticorps anti-HLA circulants

Le rejet chronique humoral doit être distingué de la néphropathie chronique terme générique sous lequel il fut parfois décrit.

Atteintes vasculaires au cours du rejet chronique humoral :

Au cours du rejet chronique humoral, les modifications vasculaires spécifiques sont la fragmentation de l'intima élastique (mieux observées sur colorations spéciales), et l'afflux de cellules inflammatoires dans l'intima fibreuse. La prolifération de myofibroblastes et la formation d'une néo-intima sont des aspects classiques. L'amincissement de l'intima fibreuse est moins spécifique. L'importance de l'occlusion du vaisseau le plus sévèrement atteint détermine la classification de ces modifications.

Atteinte glomérulaire au cours du rejet chronique humoral :

La glomérulopathie chronique du transplant correspond à une évolution de la glomérulopathie aiguë du greffon, et se traduit cliniquement par une protéinurie d'intensité variable. Elle peut être observée dès le 4<sup>ème</sup> mois en post-transplantation.

La glomérulopathie du transplant comporte donc des lésions spécifiques :

- Interposition de matrice mésangiale et de cellules au niveau de la paroi des capillaires glomérulaires leur conférant un aspect en double contour. La membrane basale apparaît dupliquée, étendue du fait de la présence de dépôts sous-endothéliaux « non électrodenses »
- Empatement du glomérule, avec turgescence des cellules endothéliales et mésangiales
- Expansion de la matrice mésangiale
- Infiltration du mésangium par des monocytes
- Mésangiolyse résultant de micro-anévrysmes capillaires
- Enfin la membrane basale des capillaires glomérulaires est amincie, fragmentée.

La duplication des contours des capillaires glomérulaires est spécifique de la glomérulopathie du transplant. En revanche, l'augmentation de la matrice mésangiale, même importante, l'est moins.

Le recours à la microscopie électronique ou l'immunofluorescence en histologie, permet la distinction entre glomérulopathie du transplant glomérulonéphrite membranoproliférative récurrente ou de novo. Cette dernière présente en effet des dépôts

électron-denses sous la membrane basale glomérulaire contrairement à la glomérulopathie du transplant. De plus en immunofluorescence on retrouve préférentiellement des dépôts de d'IgM plus que de C3 dans la glomérulopathie du transplant contrairement à la glomérulonéphrite membrano-proliférative où les dépôts de C3 sont prédominants.

### **C. Physiopathologie du rejet d'allogreffe**

Historiquement le rejet d'allogreffe était un processus considéré comme principalement à médiation cellulaire. L'impact délétère des anticorps dirigés contre le donneur était suspecté depuis les années 60, mais les difficultés d'exploration de l'alloimmunité humorale d'une part et les recours thérapeutiques limités d'autre part, on fait que, jusqu'au début des années 90, les efforts de recherche se sont concentrés sur l'alloimmunité cellulaire ; les traitements utilisés lors des rejets étant d'ailleurs essentiellement dirigés contre les effecteurs de l'immunité cellulaire. Une publication intéressante de Jeannet et al en 1970 suggérait déjà que la production de novo d'anticorps spécifiques anti-donneur à l'encontre de l'organe transplanté, pouvait induire des lésions sévères du greffon. (9) Ce n'est qu'au début des années 90 qu'Halloran et al établirent les rejets aigus associés à la présence d'anticorps de novo de type anti-HLA du donneur, définissant une entité clinicopathologique de pronostic péjoratif.

Qu'il soit de nature humorale ou cellulaire, la réaction rejet d'allogreffe est potentialisée par certaines conditions cliniques, en particulier, la durée d'ischémie froide : le syndrome d'ischémie-reperfusion favorise ainsi la libération de cytokines pro-inflammatoires et donc le recrutement de cellules de l'inflammation ainsi que par la présentation antigénique liée à la présence de débris cellulaires de nécrose tubulaires(10).

#### **1. La réponse alloimmune à médiation cellulaire**

Le primum movens de cette réponse alloimmune cellulaire est la reconnaissance par le récepteur du lymphocyte T (ou TCR) du peptide antigénique du greffon associé à des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité ou CMH situés sur la membrane des cellules présentatrices d'antigènes (lymphocytes, monocytes, macrophages, cellules dendritiques, voir cellules endothéliales et cellules épithéliales en cas d'activation).

Selon qu'il s'agit de molécules du CMH du donneur ou du receveur, on distingue deux mécanismes complémentaires que sont la reconnaissance directe et la reconnaissance indirecte :

##### **a) La reconnaissance directe**

La reconnaissance directe : Elle correspond à la présentation des antigènes du donneur par les cellules présentatrices d'antigènes ou CPA du donneur (cellules dendritiques tissulaires, cellules endothéliales, et cellules épithéliales après activation par l'interféron gamma en cas de rejet), et donc via le CMH du donneur, aux lymphocytes du receveur. Ces cellules présentatrices peuvent migrer dans les organes lymphoïdes du receveur. (11). Cette voie permet l'activation de 1 à 5 % des lymphocytes T alloréactifs du receveur. La reconnaissance directe intervient notamment lors de rejet aigu précoce

##### **b) La reconnaissance indirecte**

La reconnaissance indirecte correspond à la présentation des antigènes du donneur par les cellules présentatrices du receveur et donc via le CMH de classe 2 (le plus souvent) du

receveur. Les antigènes proviennent des protéines solubles et des protéines cytoplasmiques libérées lors de la lyse cellulaire. Ce mode de reconnaissance indirecte intervient essentiellement lors des rejets aigus tardifs et chroniques.

### c) Le récepteur du lymphocyte (12) T

#### Le récepteur du lymphocyte T

Les récepteurs d'antigènes des lymphocytes T ou TCR, sont des hétérodimères formés par l'association de deux chaînes polypeptidiques alpha/bêta dans 90% des cas et gamma/delta dans 1 à 10% des cas. Chaque chaîne comporte un domaine variable ou V N-terminal et un domaine constant C-terminal, une séquence hydrophobe d'une vingtaine d'AA responsable de l'ancrage dans la membrane plasmique, ainsi qu'une courte séquence intracytoplasmique.

Le site de liaison du récepteur T alpha/bêta interagit avec un épitope présenté par les molécules de CMH de classe 1 ou 2, le site de liaison du récepteur T gamma/delta, en revanche fixe les épitopes non associés aux molécules de CMH.

En règle générale, chaque lymphocyte exprime sur sa membrane une seule espèce de récepteur T.

Les récepteurs alpha/bêta ou gamma/delta sont associés en surface aux complexes moléculaires CD3 qui en outre sont nécessaires à l'expression de ces mêmes récepteurs sur la membrane du lymphocyte T.

Enfin le complexe « récepteur T/CD3 » à la surface des lymphocytes alpha/bêta est associé aux molécules coréceptrices CD4 ou CD8 interagissant respectivement avec les molécules CMH de classe 2 et 1, participant ainsi à la transduction du signal activateur en provenance de CD3 : CD4 et CD8 étant en effet associées dans leur portion intracytoplasmique à une tyrosine kinase p56Ick. Protéine de la famille src, elle joue un rôle important dans l'activation des lymphocytes T. Outre CD4 et CD8, elle est également associée à CD2 et la chaîne bêta du récepteur de l'interleukine2. L'inactivation du gène Ick, entraîne une hypoplasie thymique et une profonde lymphopénie périphérique.

Au niveau du domaine variable du récepteur T, le plus haut degré de variabilité des amino-acides est concentré sur 3 zones appelées **régions déterminants la complémentarité ou CDR 1 à 3**. La variabilité des domaines CDR1 et CDR2 est héritée de la lignée germinale, en revanche celle de CDR3 est générée pendant la maturation de chaque cellule T.

La capacité des récepteurs T à distinguer les molécules du CMH de classe 1 ou 2 est ainsi si précise que le remplacement d'un seul amino-acide au niveau d'un de ces sites stratégiques du domaine variable de la chaîne alpha peut modifier la spécificité du récepteur T d'une classe HLA vers une autre.

Les trois CDR s'associent au sein d'un **paratope** pour interagir avec le complexe CMH-peptide de la cellule présentatrice d'antigène.

Les régions CDR1 et CDR2 des chaînes alpha et bêta interagissent avec les chaînes alpha des molécules de CMH de classe 1 ou 2.

CDR1alpha interagit avec le segment N-terminal du peptide, CDR1 bêta interagit avec le segment C-terminal.

CDR3 interagit avec la zone de peptide situé en surface : 1 à 4 acides aminés pour les peptides présentés par les molécules HLA de classe 1 ; 6 AA pour ceux présentés par les molécules HLA de classe 2. Au sein de ces séquences peptidiques de surface, il existe un amino-acide dit « dominant » indispensable pour l'interaction avec le TCR. Des modifications au niveau des amino-acides adjacents peuvent être responsables d'interaction de plus faible affinité et

d'un signal incomplet à l'origine d'une anergie du lymphocyte T.

La migration des cellules dendritiques permet donc la présentation du complexe peptide allogène/ molécule CMH de classe 2 (allogène ou non) au niveau des zones riches en cellules T des tissus lymphoïdes. Les lymphocytes T naïfs vont passer ainsi au contact de ces cellules interdigitées et selon la structure de leur TCR alpha/bêta certains seront activés et initieront un processus d'expansion clonale et de différenciation. Le terme de synapse immunologique a en conséquence pu être employé par certains auteurs, afin de désigner le complexe temporaire formé par la cellule dendritique et le ou les lymphocytes T CD4 ou CD8 à son contact. La zone centrale de la synapse est ainsi formée par le TCR (ou CMH sur la cellule présentatrice d'antigène) tandis que les molécules d'adhésion (CD43 et CD45) sont en périphérie. Une polymérisation de l'actine dans la cellule T est nécessaire pour former ces synapses. Les molécules de CD4, initialement nombreuses dans la zone centrale seront dans un second temps remplacées par CD28.

La reconnaissance, directe ou indirecte est ensuite suivie d'une activation et d'une expansion clonale des lymphocytes T alloréactifs CD4+ stimulés par les molécules HLA de classe 2 et CD8+ stimulés par les molécules HLA de classe 1.

Des signaux de costimulation sont fournis par l'interaction des molécules d'adhésion intercellulaire : CD4/HLA DR, LFA1/ICAM1 et ICAM2, CD28 avec B7 (CD80 et CD86).

Ces signaux activateurs permettent le passage de la cellule T des phases G0 à G1, l'expression de CD25 et la formation d'un récepteur d'IL2 de haute affinité, étape stimulée par IL1, inhibée par PGE2. IL2, synthétisée en phase G1, se lie à son récepteur sur un mode autocrine ou paracrine et permet la synthèse d'ADN et donc la mitose (progression du lymphocyte de la phase G1 vers la phase S).

Des cellules T alloréactives vont ensuite se différencier en cellules T cytotoxiques spécifiques des antigènes HLA de classe 1 des cellules stimulantes. Une même cellule T peut-être alloréactive et reconnaître le peptide d'un antigène de l'environnement, associé à une molécule HLA du soi lors de la reconnaissance indirecte ou du non soi lors de la reconnaissance directe. Cette réaction lymphocytaire mixte entraîne une différenciation d'effecteurs cytotoxiques spécifiques d'antigènes portés par les cellules stimulantes.

Les lymphocytes cytotoxiques spécifiques des antigènes HLA de classe 1 sont de phénotype CD8+ et ceux reconnaissant les antigènes de classe 2 sont de phénotype CD4+.

L'expansion clonale permet d'obtenir une réponse secondaire de cinétique accélérée lors d'une nouvelle stimulation par des cellules ayant des antigènes HLA-D communs avec les premières cellules stimulantes.

Les cellules CD4+ alloréactives stimulées par les complexes moléculaires HLA de classe 2/peptide portés par l'endothélium du greffon et les cellules dendritiques d'une part, les cellules CD8+ activées par les antigènes HLA de classe 1 d'autre part, produisent un ensemble de cytokines (IFN gamma, IL2, TNF alpha) qui stimulent la production d'IL1, de TNF, d'IL6, d'IL8 et l'expression d'antigène HLA de classe 2 par les cellules endothéliales. Ces cytokines augmentent la perméabilité vasculaire et provoquent l'infiltration caractéristique par des cellules mononucléées et, à plus long terme, la prolifération endothéliale.

IL6, TNFalpha, la bêta 2 microglobuline et la CRP, voient leurs taux sériques augmentées. Ces cytokines sont produites principalement par les cellules CD4+ de profil Th1

et CD8+ sous le contrôle positif d'IL12 ; leur synthèse est inhibée par les cellules de profil Th2 (production de cytokines inhibitrices IL4 et IL10).

Les cellules T CD8+ cytotoxiques détruisent les cellules du greffon par reconnaissance des complexes peptides /HLA de classe 1 ou 2 :

- adhésion,
- libération de granzyme, de perforine ou bien de Fas ligand de TNF de lymphotoxine,
- induction d'une apoptose.

## 2. La réponse alloimmune à médiation humorale

Le rejet aigu était jusqu'à présent considéré comme essentiellement médié par les lymphocytes T. Cependant le rejet aigu à médiation humorale semblerait intervenir dans près de 20 à 30% des cas des épisodes de rejet.

Les facteurs de risque de la réponse alloimmune à médiation humorale ont été identifiés (13) :

- Transplantations antérieures,
- Sexe féminin,
- Grossesse,
- Crossmatch historiques positifs,
- Augmentation du PRA,

Le rejet aigu à médiation humorale serait de moins bon pronostic et réfractaire aux thérapeutiques immunosuppressives habituellement utilisées.

Il fut d'ailleurs pendant longtemps de diagnostic difficile du fait de l'absence de marqueur histologique ou immunohistochimique fiable, et ceux jusqu'à ce que les travaux de Feucht, au début des années 1990, révèlent l'intérêt des dépôts de C4d, sujet que nous traiterons plus loin dans notre exposé.(14)

Longtemps sous-estimés, les alloanticorps anti-HLA ont été indépendamment découverts par Dausset (15) et van Rood JJ. Leur mécanisme d'action demeura longtemps imparfaitement élucidé (16).

Le rejet hyperaigu, en cas de transplantation ABO-incompatible ou chez les receveurs possédants des anticorps préformés anti-HLA de classe 1, témoigne cependant de leurs capacités destructrices sur les organes greffés. Ils sont ainsi fréquemment associés à un risque de perte précoce ou tardive des greffons .

Dans le rejet aigu d'allogreffe, de nombreux travaux s'attachèrent à démontrer l'intérêt des anticorps spécifiques anti-donneurs de type anti-HLA en tant que marqueurs sérologiques fiables et en tant que facteur de risque de dysfonction du greffon.

Ainsi dans un article publié en 2005,(14), Zhang décrivait une étude prospective portant sur 49 patients transplantés rénaux ayant fait l'objet d'un monitoring en post-transplantation des anticorps anti-donneurs de type anti-HLA. Ces 49 patients, greffés entre octobre 2001 et mai 2003 étaient considérés comme étant à risque de rejet d'allogreffe selon les critères suivants:

- Reprise différée de la fonction du greffon,
- Transplantation(s) antérieure(s),
- Incompatibilités HLA.

Tous les patients avaient un crossmatch B et T négatif avant greffe aussi bien en microlymphocytotoxicité qu'en cytométrie de flux, à l'exception d'un patient dont le crossmatch en cytométrie de flux était faiblement positif probablement par le fait d'anticorps non HLA. Sur les 49 patients, 11 développeront des anticorps spécifiques anti-donneurs de type anti-HLA et 19 autres des anticorps anti-HLA non spécifiques du donneur.

Les 19 patients ayant développés des anticorps anti-HLA non spécifiques du donneur ne présenteront, durant la période d'étude ni rejet aigu cellulaire, ni rejet aigu humoral. En revanche, il retrouvait une relation temporelle entre l'apparition des anticorps spécifiques anti-donneurs et la survenue d'un rejet humoral. Inversement, durant la période d'étude, parmi les 8 patients ayant développé un rejet aigu humoral, 7 développeront de tels anticorps anti-donneurs avant ou juste après la biopsie. Le 8ème n'en développera que tardivement, vers le 75ème jour en post-biopsie probablement du fait de l'adsorption des anticorps sur le greffon.

### **a) Génération des anticorps spécifiques antidonneurs (16)**

Les alloanticorps peuvent être formés en cas de transfusions, de grossesses, ou de transplantations ; ils sont dirigés le plus souvent contre les molécules CMH de classe 1 ou 2 et sont le plus souvent de type IgG avec une haute affinité. Dans le cas particulier de la transplantation rénale, leur cible principale est l'endothélium du greffon.

La réponse B primaire a lieu dans les organes lymphoïdes secondaires : les ganglions. Son maxima est obtenu en 14 jours. Dirigée contre les antigènes du CMH de membrane, elle débute par la liaison de molécules du CMH avec le récepteur du lymphocyte B ou BCR.

Les molécules de CMH allogéniques sont le plus souvent sur la membrane des cellules du donneur mais peuvent également être libérées en tant que protéines solubles ou insérées sur la membrane d'une vésicule. Ces formes peuvent être également reconnues par les cellules T dans les organes lymphoïdes secondaires ou à l'intérieur du greffon.

Le BCR est sensé reconnaître le CMH natif et non sa forme dénaturée, pour générer des alloanticorps qui vont se lier à ce même CMH à la surface des cellules du donneur.

En l'absence d'alloantigènes, les cellules B restent dans les follicules primaires avec les cellules dendritiques.

Lors de la rencontre de l'antigène avec la cellule B, le follicule primaire croît, devient un follicule secondaire composé d'un anneau de cellules B entourant un centre germinatif lequel contient des cellules B proliférantes et des cellules T helpers.

Le récepteur des lymphocytes B ou BCR, comporte un site de liaison et deux hétérodimères de transduction du signal : immunoglobuline alpha et immunoglobuline bêta.

La liaison de l'antigène sur son site déclenche

- une voie de signalisation intracellulaire : activation de MAPK, d'IP3 et Ca<sup>2+</sup>, aboutissant à une réponse effectrice humorale, la participation des cellules T helpers étant indispensable,
- L'internalisation de l'antigène, lequel s'associe aux molécules CMH de classe 2 au sein du système vésiculaire sous membranaire, puis est présenté à la surface des cellules T, notamment CD4<sup>+</sup> helpers, du follicule. Ces dernières produiront alors des cytokines nécessaires à l'expansion clonale à la différenciation et la maturation des

## cellules B

Les cellules B activées pourront alors soit migrer en dehors du centre germinatif, se différencier en cellules plasmocytaires à courte durée de vie assurant la production initiale d'anticorps et perdant alors la plupart de leur marqueur de surface ; soit demeurer au sein de ce centre germinatif, et subir une mutation hypersomatique les amenant à produire des anticorps de haute affinité (plasmocytes dans la rate et les ganglions à court terme, dans la moelle à long terme) et/ou à se transformer en cellules B mémoires. Certains auteurs ont ainsi pu parler de « réaction du centre germinal » (17)

Les premiers anticorps ainsi produits étant de type IgM, un switch s'opère ultérieurement au profit des IgG.

### **b) Fondements de la coopération entre les cellules B et T lors de la réponse humorale**

Dans les organes lymphoïdes secondaires les cellules B et T ont des localisations différentes :

Les cellules B sont situées dans la zone corticale (avec les cellules dendritiques) des nodules lymphoïdes ou dans la zone marginale de la rate, tandis que les cellules T se trouvent dans la zone paracorticale des nodules lymphoïdes ou dans les manchons lymphoïdes périartériolaires de la rate où ils interagissent avec les cellules dendritiques provenant de la périphérie.

La liaison du BCR et de l'antigène induit la migration de la cellule B vers la frontière entre les zones B et T : la production des chémokines CXCL19 et CXCL21 par les cellules B active puis attire les cellules T vers cette même zone frontière. Ces cellules B activées expriment également CD7 et CD40.

En présence d'une cellule B et de son antigène spécifique, la cellule T libère à son tour des cytokines et signaux costimulateurs pour la production d'anticorps. Les cellules T activées produisent ainsi CD40L (ligand de CD40)

Or l'interaction CD40 /CD40L intervient lors du switch isotypique des IgM vers les IgG.

La coopération B-T est donc nécessaire pour la production efficiente d'anticorps et pour la définition de leur spécificité.

Cette coopération permet en effet la différenciation des cellules B en plasmocytes de courte durée de vie, perdant la plupart de leur marqueur de surface et produisant des anticorps.

Expérimentalement, les souris déficientes en composants des voies de signalisation CD40, CD28 et ICOS ont une capacité réduite à générer des centres germinatifs et cellules B mémoires, présentent également une réponse humorale défailante vis-à-vis des antigènes T-dépendants (17).

Les premiers anticorps produits initialement retournent dans les organes lymphoïdes secondaires au sein des complexes immuns où ils sont reconnus par les cellules B de haute affinité

A mesure que le taux d'antigènes décroît, seules les cellules B avec récepteurs de haute affinité continuent de proliférer.

Les cellules B mémoires sont activées suite à une seconde exposition au même antigène. Elles ont un BCR de haute affinité, résultant du processus de maturation lors de la réponse primaire. Elles sont activées par un plus faible taux d'antigènes, et produisent un taux

d'anticorps plus important dans des délais plus brefs.

La réponse anticorps secondaire est plus importante, plus rapide et plus spécifique. La longévité de cette réponse anticorps (humorale) est due au maintien de la présence des cellules B plasmocytaires à longue durée de vie ou à la persistance d'antigènes. La réponse humorale au long cours est donc le fait de plasmocytes post-mitotiques et résidant principalement dans la moëlle osseuse, produisant des anticorps de type IgG de haute affinité.

La survie des cellules plasmiques est régulée via un phénomène de compétition pour un nombre limité de niches de survie : moëlle osseuse, pulpe rouge de la rate, tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT). Cette compétition permet la sélection de cellules produisant les anticorps de la plus haute affinité.

Une stimulation antigénique persistante entraîne de ce fait la génération de nouvelles cellules plasmocytaires et donc la production d'anticorps de haute affinité, l'élimination sériq ue des antigènes et enfin l'arrêt de la génération de nouvelles cellules plasmiques permettant la diminution de la compétition pour les niches de survie : au total, il persiste dans ces niches des cellules mémoires post-mitotiques à longue durée de vie produisant des anticorps de haute affinité.

La survie de ces cellules à longue durée de vie dans la moëlle osseuse est promue par la présence de signaux extrinsèques de survie cellulaire fournis par la moëlle. Ainsi expérimentalement lorsque les cellules plasmiques sont placées in vitro en milieu de culture, leur durée de vie n'excède pas quelques jours. Les facteurs impliqués dans la promotion de la survie des cellules plasmiques dans la moëlle osseuse, seraient des cytokines IL-6, les interactions avec VLA (very late antigen), IL-5, TNF-alpha, CD44, et BCMA. Par ailleurs les cellules plasmocytaires expriment les facteurs anti-apoptotiques BCL-2, A20 et IAP-2. Enfin, on peut citer l'implication d'un facteur de régulation nucléaire appartenant à la famille Ikaros : Aiolos, intervenant dans la modulation de l'expression de gènes de survie des ces cellules plasmiques à longue durée de vie, mais aussi lors de la transformation des cellules B matures en cellules plasmiques à longue durée de vie. (17).

Dans le cas particulier du rejet d'allogreffe, la stimulation antigénique persiste sur une longue période du fait de la persistance du greffon rejeté ou de fragments tissulaire de ce dernier. De ce fait, la réponse humorale anti-CMH du donneur perdure du fait de la stimulation de lymphocytes alloréactifs et dans ce cas ne nécessite pas de plasmocytes à longue durée de vie. En revanche, les patients, faisant l'objet d'une transfusion ou d'une grossesse, présentent également des anticorps anti-CMH du donneur en dépit de l'absence de stimulation antigénique persistante. Dans ce cas la source d'antigènes peut provenir de cellules du donneur microchimériques.

### **c) Spécificité antigénique des alloanticorps anti-donneurs**

#### **Les antigènes susceptibles d'induire une réponse alloimmune humorale**

Un alloantigène médiateur d'une réaction de rejet humoral doit être exprimé à un taux significatif ou être inductible par l'interféron gamma. Il est incompatible entre le donneur et le receveur, et est, de ce fait, capable d'induire une réponse alloanticorps importante.

Déjà évoqués plus haut, ceux sont essentiellement les antigènes des groupes sanguins ABO, les antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité de classe 1 et 2. Toutefois, les systèmes mineurs d'histocompatibilité, les protéines MIC (MHC related protein) de type A et B de même que certains antigènes endothéliaux jouent un rôle non négligeable.



En transplantation humaine, le meilleur moyen de réduire l'immunogénicité du greffon est de minimiser les différences alloantigéniques entre le receveur et le donneur par la sélection du donneur.

Ceci comporte dans un premier temps le respect des antigènes des groupes sanguins ABO et secondairement, la recherche d'anticorps préformés chez le receveur, dirigés contre les cellules du donneur par une technique de crossmatch (18, 19).

Les molécules du CMH sont indispensables à l'initiation de la réponse immune.

Plus récemment a été décrite une famille nouvelle dont les molécules ont une structure analogue à celles de type HLA de classe 1, codées par les gènes MIC (MHC class 1 chain related genes) de A à E. Elles sont exprimées sur l'épithélium cutanéomuqueux et les fibroblastes ; leur fonction exacte est imparfaitement connue.

Ces antigènes non-CMH ou antigènes d'histocompatibilité mineurs peuvent également induire un rejet ; leur importance est démontrée en clinique par le fait que les greffons bien appariés, à l'exception des jumeaux homozygotes, nécessite tout de même une immunosuppression pour prévenir le rejet.

#### (a) Le système HLA

Le complexe HLA, situé sur le bras court du chromosome 6, bande p 21.3, contient plus de 200 gènes, soit environ 1/1000<sup>ème</sup> du génôme humain (20, 21). Ces gènes sont en liaison étroite, les haplotypes étant transmis en bloc des parents aux enfants. Plus de 40 d'entre eux codent pour les antigènes HLA, les autres étant un assortiment de gènes non liés au système HLA mais fonctionnellement impliqués .

Le CMH a une organisation relativement stable entre les espèces. Son polymorphisme résulte de son caractère multigénique, multiallélique. Son expression est codominante : chaque allèle sur chaque haplotype étant exprimé.

Les gènes HLA sont divisés en 3 classes, mais seules les 2 premières sont importantes :

Les classes 1 et 2 sont fonctionnellement et structurellement différentes.

1. Les gènes de classe 1 codent pour la chaîne polypeptidique alpha de la molécule de classe 1 ; la chaîne bêta est codée par un gène situé sur le chromosome 15 : le gène de la bêta 2 microglobuline. La chaîne alpha comporte 5 domaines : deux domaines de liaison peptidique (alpha 1 et 2) ; un domaine immunoglobuline-like (alpha 3) ; la région transmembranaire ; la portion cytoplasmique. Il y a 20 gènes de classe 1 dans la région HLA. Les gènes HLA-A, B, C dits classiques sont les principaux acteurs de la scène immunologique.
2. Les gènes de classe 2 codent pour les chaînes polypeptidiques alpha et bêta des molécules de classe 2. Chaque chaîne alpha ou bêta comporte 4 domaines : domaine de liaison peptidique, domaine immunoglobuline-like, domaine transmembranaire et portion intracytoplasmique.

Toutes les cellules de l'organismes possèdent à leur surface des molécules HLA de classe 1, notamment les cellules dendritiques, macrophages et lymphocytes en revanche elles sont présentes en densité plus faible sur les hépatocytes voir nulle sur les érythrocytes, les cellules du système nerveux central, les épithélium acinaires du pancréas et des glandes salivaires, l'endothélium cornéen, le trophoblaste et les cellules embryonnaires au début de leur développement. Le niveau d'expression des molécules HLA de classe 1 est induite par les IFN alpha bêta et gamma ; l'expression des molécules HLA A B C bêta 2 microglobuline et TAP (protéine chargée du transport des molécules HLA de classe 1 à travers l'appareil de

Golgi puis de leur expression en surface) (21) est coordonnée.

Les molécules HLA de classe 2, en revanche, ne sont présentes que sur quelques types cellulaires : les cellules présentatrices d'antigènes à savoir les lymphocytes B, les cellules dendritiques, monocytes/macrophages, entérocytes des villosités, épithélium des voies respiratoires, progéniteurs hématopoïétiques, et après activation sur l'endothélium vasculaire et les lymphocytes T. L'expression des molécules HLA de classe 2 est induite par IFN gamma, IL4, IL13, TNF alpha et bêta, GM-CSF, réprimée par PGE2. Ainsi, en présence d'interféron gamma, d'autres cellules peuvent exprimer les molécules HLA de classe 2.

La fonction des molécules de classe 1 et 2 est de présenter de courts fragments peptidiques pathogènes aux cellules T; processus initiant la réponse immunitaire adaptative. Cependant, tandis que les molécules HLA de classe 1 sont impliquées dans la présentation des peptides endogènes aux cellules T CD8+, les molécules HLA de classe 2 interviennent pour la présentation des peptides exogènes aux cellules T CD4+.

### **Processing et présentation des antigènes**

Les cellules sont équipées d'un système de gestion et de recyclage de déchets ; au sein duquel interviennent des protéasomes, chargés de la dégradation des protéines en de plus petits fragments. Les peptides issus de ce processus sont ensuite dégradés en amino-acides dans le cytoplasme ou transférés dans le réticulum endoplasmique.

Les protéines extracellulaires subissent une voie de dégradation différente. Elles sont incorporées dans de petits sacs qui s'invaginent au niveau de la membrane plasmique. Elles sont alors prises en charge par des vésicules endocytiques, qui fusionnent avec les lysosomes primaires comportant un assortiment d'enzymes protéolytiques, pour former un endosome. Au sein des endosomes, les protéines ingérées sont dégradées tout d'abord en peptides, puis, au sein de petites vésicules, en amino-acides.

Les deux chaînes polypeptidiques des molécules de classe 1, la chaîne alpha et la chaîne bêta-2microglobuline, sont fabriquées séparément par les ribosomes sur la face cytosolique du réticulum endoplasmique, puis sont finalement assemblées. Ils empruntent des canaux spéciaux pour se diriger vers la surface luminale du réticulum endoplasmique. Les chaînes sont alors prises en charge par des molécules chaperones (calnexine, calreticuline, protéine p57 du réticulum endoplasmique, tapasine, etc), ces molécules chaperones assurent que les polypeptides ne soient pas produits prématurément, qu'ils soient correctement glycosylés, que la chaîne alpha rencontre bien la chaîne bêta au moment approprié, et que cette union s'effectue sans incident.

La molécule de classe 1 est alors conduite à la surface cellulaire grâce au système des protéines TAP. Ces molécules de classe 1 sont liées à la membrane plasmique via la portion transmembranaire de la chaîne alpha. Dans cette position, elle présente l'essentiel de la chaîne alpha (domaines alpha 1, 2, et 3) et la chaîne bêta-2-microglobuline aux autres cellules. Simultanément, les molécules de classe 2 sont préparées à recevoir les peptides générés par la voie de processing des protéines endocytées.

Comme les deux chaînes des molécules de classe 1, celles des molécules de classe 2 sont synthétisées séparément à la surface cytosolique du réticulum endoplasmique. Elles sont ensuite acheminées et assemblées à la surface luminale du réticulum endoplasmique avec l'aide de molécules chaperones.

Mais contrairement aux molécules de classe 1, les molécules de classe 2 ne vont pas s'associer aux alloptides dans le réticulum endoplasmique. Elles sont en effet liées à une

protéine invariante qui se comporte comme un signal « stop » s'opposant à la liaison peptidique et prévient l'association prématurée des peptides.

Enfermées dans des vésicules, les complexes molécules de classe 2/chaînes invariantes séjournent dans une région du cytoplasme où elles sont susceptibles de rencontrer des endosomes avec leur contenu de protéines exogènes. Les vésicules membranaires et les endosomes fusionnent pour former le compartiment du CMH classe 2 au sein desquelles les protéases dégradent les protéines exogènes et l'essentiel de la chaîne invariante (les molécules de classe 2 étant remarquablement résistantes à l'action des enzymes).

La chaîne invariante est éliminée par des molécules spécialisées dans cette tâche, un peptide dérivé d'une protéine exogène se glisse alors, dans le sillon. Le complexe molécule CMH de classe 2/peptide exogène est alors exporté à la surface de la molécule.

La présentation des peptides exogènes par les molécules CMH de classe 1 se fait simultanément dans la plupart des cellules. En revanche transformation et présentation des peptides exogènes sont des fonctions restreintes aux cellules B, macrophages et cellules dendritiques qui sont très efficace pour la récupération du matériel exogène pour l'endocytose et la phagocytose.

Bien que les molécules de classe 1 et 2 forment des complexes avec les peptides endogènes et exogènes respectivement, cette ligne de démarcation n'est en aucun cas absolu : des complexes associant molécules de classe 1 et peptides exogènes d'une part, molécules de classe 2 et peptide endogène, existent, mais leur mécanisme de formation est imparfaitement connu.

La surface de chaque cellule est ainsi « décorée » de 100000 à 300000 molécules HLA de classe 1 ou 2 liées à des peptides endogènes pour les cellules non infectées. Les peptides endogènes sont présentés en plusieurs centaines ou milliers de copies et pour certains quelques unes.

Ces complexes peptides/HLA sont reconnus par les lymphocytes T.

En transplantation rénale, ce sont les molécules HLA A B et DR qui retiennent le plus l'attention du clinicien : HLA C n'étant pas aussi polymorphique que HLA A et B, HLA DQ étant étroitement lié à HLA DR. Les incompatibilités concernant les loci HLA A B DR ne sont cependant pas des contre-indication à la greffe, bien que la durée de vie des greffons semble augmentée avec le nombre d'identités HLA.

En cas de greffe à partir de donneurs vivant apparentés, on tente également de réduire les différences concernant les allèles du CMH de classe 1 et 2 entre le donneur et le receveur. Tous les receveurs et donneurs potentiels font l'objet d'un typage HLA. Les compatibilités HLA entre donneur et receveur améliorent la survie du greffon, notamment pendant la première année et ce d'autant que leur nombre est plus élevé.

Le nombre de compatibilités HLA revêt cependant une importance moindre depuis l'avènement des nouvelles drogues immunosuppressives.

### **(b) Les antigènes des groupes sanguins ABO**

Du fait de leur forte antigénicité, la compatibilité des groupes sanguins ABO entre donneur et receveur était classiquement respectée. Cependant, du fait de la pénurie de greffons, des cas de transplantations ABO incompatibles, sous certaines conditions, ont pu être envisagés.

En transplantation ABO incompatible, la capacité des anticorps anti-ABO à médier un rejet, devient apparente dès les premiers jours. Les antigènes A et B sont en effet présents sur les cellules endothéliales, le glomérule, l'interstitium, mais pas sur les cellules tubulaires ou

mésangiales, et sont les cibles des anticorps anti-A ou B.

Le concept de transplantation du sous-groupe A2 vers le groupe non-A est largement admis comme étant possible. De 1974 à 2001, 134 cas de transplantation rénale du groupe A2 vers les groupes O/B ont été publiés. Elles ont été réalisées lorsque le taux d'anticorps anti-A était bas avant transplantation. Le taux de survie du greffon à un mois était de 79% :

En 1987, fut publiée une série de cas de transplantations rénales réussies d'un greffon provenant d'un donneur vivant apparenté en dépit de la barrière ABO, utilisant une quadruple immunosuppression et la splénectomie. 18 des 24 patients transplantés rénaux ABO-incompatibles avaient un greffon fonctionnel à 1 an .

Actuellement des résultats satisfaisants sont obtenus en transplantation hépatique ABO-incompatible, mais toujours moindre qu'en transplantation ABO-compatible. Il faut cependant noter que de telles transplantations sont effectuées en situation d'urgence.

Les transplantations ABO-incompatibles cardiaques ou pulmonaires sont plus rares. Quelques rares cas ont réussi chez des enfants porteurs de cardiopathies congénitales. Ces succès seraient dus à l'immaturation de leur système immunitaire : ils semblent développer une tolérance par délétion des clones de cellules B produisant des anticorps anti-A ou anti-B.

Les anticorps anti-ABO en transplantation d'organes auraient des propriétés différentes des anticorps anti-HLA : effectifs en phase précoce plus qu'en phase tardive par des mécanismes impliquant une accommodation, modulation antigénique, et immunorégulation (22).

#### (c) Les protéines MICA/MICB (23, 24, 25)

Décrites de façons indépendantes par deux équipes en 1944, ce sont des protéines associées aux molécules HLA de classe 1. Ce sont des antigènes hautement polymorphes, susceptibles d'être la cible d'une réponse alloimmune. Environ 60 allèles de MICA et 25 allèles de MICB ont été identifiés à ce jour.

Les protéines MICA sont présentes à la surface des lymphocytes T périphériques, leur expression activée en cas de stimulation des cellules T. Le gène de la protéine MICA est situé à proximité de HLA-B et est relié aux gènes CMH de classe 1. L'existence de similarités entre MICA et CMH de classe 1, signifie que MICA lie les mêmes ligands et sont des cibles potentielles des réponses humorales et cellulaires. Les protéines MIC ne sont pas associées à la bêta2microglobuline et délimitent une fente trop étroite pour accueillir les peptides susceptibles d'être présentés aux cellules T. En revanche, elles constituent des ligands pour les récepteurs d'activation NKG2D à la surface des cellules NK, cellules T CD8+ et cellules T gamma/delta.

En se liant à NKG2D, les protéines MICA/MICB fournissent une puissante costimulation aux cellules NK et aux cellules T et peuvent de ce fait influencer sur l'amplitude et le devenir des fonctions effectrices de la réponse immune.

Ces molécules sont également présentes à la surface de l'endothélium, constituant ainsi une cible pour la réaction de rejet d'allogreffe. Elles peuvent induire la formation d'alloanticorps impliqués dans la réponse alloimmune à médiation humorale.

La fonction physiologique précise des protéines MICA/MICB est imparfaitement connue. Exprimées sur la surface membranaire des fibroblastes, elles semblent intervenir dans le processus d'inhibition de contact (26). Par ce biais, elles semblent également altérer le potentiel cytotoxique des cellules « natural killer »

Quoiqu'il en soit, l'importance grandissante des allèles MICA, notamment en transplantation

rénale est soulignée par une étude intéressante de Y. Zou publiée en 2006 : cet auteur détectait par cytométrie de flux (luminex) la présence d'anticorps anti-MICA dans les sérums prélevés chez des patients inscrits sur liste d'attente de transplantation rénale, mais aussi chez des patients greffés, et au sein d'éluats obtenus à partir de pièce de transplantectomie ; ce dernier élément étant en faveur de leur implication dans le rejet à médiation humorale (27).

#### **(d) Autres antigènes susceptibles d'induire une réponse alloimmune**

Des antigènes endothéliaux, (28, 29, 30) plus précisément les récepteurs AT1 de l'angiotensine 2 ont été incriminés dans la réaction de rejet d'allogreffe.

Des anticorps pathogènes dirigés contre deux épitopes de la seconde portion extra-cellulaire du récepteur AT1 ont pu être mis en évidence dans le sérum de patients transplantés rénaux, ayant développé un rejet sévère corticorésistant avec hypertension artérielle.

Expérimentalement, l'injection d'alloanticorps anti-récepteur AT1 induit des modifications vasculaires et une ascension des chiffres tensionnels chez les rats transplantés rénaux. La fixation de ces anticorps sur leur cible entraîne l'activation de ERK 1 et ERK 2, AP-1 et NF kappa B dans les cellules endothéliales.

Des anticorps agonistes des récepteurs AT1 similaires ont été mis évidence en cas de prééclampsie. Néanmoins l'épitope cible serait différent dans les 2 situations.

Notons que la recherche en matière d'anticorps anti-cellules endothéliales est gênée par la variabilité des lits vasculaires rendant difficile l'établissement d'une méthode de détection standardisée. De plus l'intérêt clinique des antigènes cibles des anticorps anti-cellules endothéliales a longtemps été trouble.

Au plan ultrastructural, les anticorps anti-récepteurs AT1 induisent une phosphorylation de ERK1/2 dans la cellule endothéliale. La liaison de l'anticorps au récepteur AT1 entraîne une cascade de signalisation mimant l'action de l'angiotensine 2 à l'origine de dommages au sein du greffon.

Plus récemment, certains auteurs ont montré que l'angiotensine 2 agirait également comme une cytokine pro-inflammatoire participant à divers désordres vasculaires. Les anticorps anti-récepteurs AT1 induiraient une réponse inflammatoire par activation de NF kappa B.

L'inhibition de l'activité de NFkappa B par un « oligodéoxynucléotide decoy » réduirait l'infiltration tubulo-interstitielle dans les greffons rénaux de rats.

Par ailleurs, les biopsies de greffons, sièges d'un rejet associé aux anticorps anti-récepteurs AT1, ont une expression du facteur tissulaire augmentée. On constate de ce fait une majoration de son activité procoagulante et de la survenue de thromboses occlusives.

L'on ne sait pas encore parfaitement si les anticorps antirécepteurs AT1 agissent par le biais de leur activité proinflammatoire et procoagulante ou par le biais de la réponse immune spécifique. Les récepteurs AT1 étant présents sur les monocytes humains, une action des anticorps sur les lymphocytes, les monocytes et les cellules dendritiques est en effet possible.

On ne sait non plus pour quelles raisons de tels anticorps se développent chez certains patients et ni pourquoi ils ont pour cible le greffon. Il est possible que ces patients aient un polymorphisme particulier.

Une autre hypothèse serait que les lésions d'ischémie-reperfusion en post-transplantation induiraient une altération de l'expression intra-greffon des récepteurs AT1 en terme de densité

et de conformation. De sorte qu'un phénomène déclenchant entraînerait une activation de l'immunoréactivité local intragreffon à leur rencontre.

Toutefois, dans la mesure où de tels anticorps n'ont été détectés que dans un laboratoire, leur réalité pourrait être remise en question.

## **(2) Conséquence de la liaison antigène-anticorps**

### **(a) Généralités**

Les alloanticorps sont les principaux effecteurs de la réponse humorale ; ils sont divisés en cinq sous-types : A/E/G/M/D ayant une structure commune constituée de quatre chaînes polypeptidiques :

- deux chaînes lourdes identiques,
- deux chaînes légères identiques.

Chaque chaîne légère est liée de manière covalente à une chaîne lourde et les chaînes lourdes sont liées de manière covalente entre elles.

Les segments N-terminaux des chaînes légères et lourdes sont responsables de la spécificité antigénique de l'anticorps.

Le segment C-terminal de la chaîne lourde varie selon les isotypes et participe à la définition de la fonction effectrice de la molécule (fragment Fc). L'immunoglobuline interagit par ce biais avec les protéines du complément et les récepteurs Fc des cellules immunes.

Les récepteurs Fc sont des récepteurs cellulaires interagissant spécifiquement à certains sites des fragments Fc des différentes classes et sous-classes d'immunoglobulines :

- On distingue les récepteurs de haute affinité fixant les immunoglobulines monomériques libres ou sous forme de complexes immuns monovalents d'une part et les récepteurs de faible affinité ne fixant que les immunoglobulines sous forme d'aggrégats ou de complexes multivalents,
- On les retrouve notamment à la surface des polynucléaires (neutrophiles, éosinophiles, basophiles), des lymphocytes (B, T, NK) et macrophages/monocytes,
- Selon le type cellulaire, ils assurent des fonctions diverses : réaction d'hypersensibilité, transcytose, clairance des IgG plasmatiques.

La liaison de l'alloanticorps à son alloantigène spécifique a 2 principaux effets :

- L'activation du complément
- La cytotoxicité dépendante des anticorps (ADCC)
- opsonisation

Cependant, les anticorps liant l'antigène peuvent parfois directement altérer la fonction de ce dernier : blocage de l'adhésion cellulaire, activation d'un récepteur, modification membranaire ou du cytosquelette.

Ainsi les alloanticorps anti-CMH de classe 1 ou 2 peuvent parfois directement agir sur l'endothélium en l'absence d'intervention des leucocytes ou du complément.

### (b) Le complément

Le complément (31, 32) constitue l'un des principaux mécanismes effecteurs de l'immunité à médiation humorale. Il assure 3 principales activités physiologiques :

- Défense contre les infections bactériennes pyogènes
- Lien entre l'immunité innée et adaptative
- Elimination des complexes immuns et des produits des lésions inflammatoires

Le complément fut initialement identifié comme un composé thermo-labile du sérum « complétant » l'activité des anticorps quant à l'élimination des bactéries.

C'est un système de défense composé d'au moins 30 protéines sériques, inactives jusqu'à ce qu'elles soient clivées par des protéases qui les convertissent à leur tour en protéases. Les protéines plasmatiques du complément, constitue près de 15% des globulines.

La nomenclature du complément suit l'ordre de découverte des différentes protéines. La première voie découverte ou voie classique du complément est initiée par la liaison d'un anticorps à la surface cellulaire, s'achève avec la lyse de la cellule. Il s'agit des composés C1 à C9.

La seconde voie découverte fut la voie alterne.

Les protéines du complément situées sur les membranes cellulaires sont soit des récepteurs pour les protéines activées du complément, soit des protéines de régulation du complément.

Il existe ainsi trois voies d'activation du système du complément :

1. la voie classique : activée par les complexes antigène/anticorps
2. la voie des mannoses
3. la voie alterne : correspondant à l'activation spontanée du composé C3 du complément

Les trois voies d'activation du complément convergent vers la génération de C3 convertase, enzyme clivant C3. Cette protéine située au cœur du système du complément, contient un pont thioester interne. Le clivage de C3 en C3b par la C3 convertase active ce pont et permet pour une courte période la liaison covalente stable aux groupements hydroxyls des carbohydrates et protéines du voisinage immédiat. Les autres molécules de C3 sont inactivées par liaison aux molécules d'eau. La liaison de C3 permet la poursuite de l'activation du complément dans et autour du microorganisme, aboutissant également à la production d'anaphylatoxines lesquelles ont un rôle chimotactique aidant au recrutement des cellules et à l'expansion de la réponse immune. La régulation du clivage de C3 est de ce fait cruciale.

Une fois C3b liée de façon covalente à la membrane, il y a deux possibilités :

1. Amplification : d'autres molécules de C3 sont clivées et se lie à la membrane. Ce processus nécessite une autre molécule du complément qui est le facteur B. Lorsque le facteur B se lie au C3b, il active le facteur D et forme l'enzyme C3 convertase C3bBb. Cette enzyme clive d'autres C3, permettant à plus de C3b de se lier à la membrane.
2. Inactivation : processus médié par le facteur I, le facteur H et deux protéines de membranes CD35 et CD46

Les mécanismes de régulation du complément sont organisés de telle sorte que l'activation du complément est concentrée sur la surface du microorganisme étranger, les dépôts de complément sur les tissus et cellules normaux étant limités.

Le clivage de C3 conduit à la formation d'un complexe d'attaque membranaire (MAC), constitué de 18 protéines disposées en un tube, s'insérant dans la membrane et

induisant la lyse cellulaire. Le complément peut ainsi induire des lésions endothéliales directes et par le biais des anaphylatoxines entraîner la constitution d'un infiltrat leucocytaire dans la paroi des vaisseaux.

Ce système intervient également comme un médiateur des lésions d'ischémie-reperfusion, induisant des lésions vasculaires et des cellules parenchymateuses. Il est aussi responsable de l'inflammation lors du rejet d'allogreffe.

En transplantation, c'est la formation des complexes immuns et donc la voie classique qui constituent le principal mode d'activation de la voie classique du complément. C1q déclenche le processus d'activation lorsqu'il rentre en contact avec des anticorps au sein des complexes immuns. C1q constitue alors un pont entre l'immunité innée et adaptative.

Le complément a également un rôle important dans l'induction de la réponse humorale. Ceci fut démontré tout d'abord par Pepy : la formation des anticorps dirigés contre les antigènes dépendants des cellules T est réduite chez les animaux dépourvus de C3.

Une cellule B commence à proliférer lorsque l'antigène lie à sa surface des molécules d'immunoglobulines (récepteurs d'antigènes). L'activation des cellules B est modulée par des corécepteurs ce qui inclut des récepteurs de composants du complément, notamment le récepteur du complément de type 2. Lorsque l'antigène rencontre une cellule B en présence de complément, le seuil pour l'activation de la cellule B est abaissé. En effet lorsque l'antigène est couplé à une molécule C3dg (fragment de C3, ligand du corécepteur du complément de type 2), beaucoup moins d'antigène sont nécessaires (d'un facteur de 10000) pour déclencher la production d'anticorps à un taux donné par rapport à un antigène natif.

Seuls les alloanticorps de sous-types IgM, IgG1/2/3 activent la voie classique du complément : la formation du complexe antigène-anticorps permet l'exposition d'un site de liaison pour C1. Chaque molécule de C1 nécessite deux sites Fc pour être activée; ceci explique que les IgM pentamériques activent plus efficacement le complément, contrairement aux IgG monomériques, lesquelles nécessitent une plus grande densité d'antigènes pour présenter des sites Fc à proximité les uns des autres. Lors de la réaction de rejet d'allogreffe, la production accrue d'interféron gamma dans le greffon assure l'augmentation de l'expression de CMH permettant une activation efficace du complément par les IgG.

Il existe en outre, en transplantation rénale, une production locale de complément susceptible de moduler cette réaction de rejet par altération de la réponse immune T cellulaire : lors de la réaction de rejet d'allogreffe, on observe une production locale de complément a lieu au niveau de l'épithélium tubulaire, mais aussi de l'endothélium, aptes à synthétiser des composés des voies classique et alterne. Ainsi les greffons provenant de donneur déficient en C3 sont moins fréquemment rejetés, témoignant de l'importance de cette production locale de C3. De même, les cellules T activées par des cellules présentatrices d'antigènes déficientes en C3 conduisent à une réponse immune T-cellulaire amoindrie.

Le complément activé sur des sites de lésions tissulaires peut provoquer des dommages via le dépôts d'éléments du complexes d'attaque membranaire et de composés se liant aux cellules tels que C3b et C4b, lesquels activent des leucocytes porteurs de récepteurs du complément. Il peut également amplifier des lésions par le biais d'anaphylatoxines C5a et C3a ce qui provoque l'afflux et l'activation de cellules inflammatoires.



Les deux modalités selon lesquelles le complément est activé au niveau tissulaire sont

1. les complexes immuns par la voie classique
2. les lésions d'ischémie-reperfusion qui expose les lipides et les protéines mitochondriales. Les cellules nécrotiques et tissus lésés sont déficientes en molécules régulatrices du complément qui en situation normale préviennent la liaison au complément. Le complément participe ainsi à la nécrose tissulaire post-ischémique, ces altérations pouvant concerner les cellules parenchymateuses et endothéliales

Le système du complément peut faire l'objet de régulation :

- Les protéines régulatrices du complément, telles que CD46 /CD55 /CD59, préviennent la destruction des cellules normales par le complément.
- Le rein serait plus sensible à l'action du complément du fait d'un faible niveau d'expression de CD55.

Enfin on peut noter que complément et les cellules B interagissent étroitement au sein de la réponse alloimmune puisque des déficits composés du complément affectent le switch de classe d'immunoglobulines et la génération de cellules B mémoires.

### **(c) La cytotoxicité dépendante des anticorps**

Les IgG circulantes, lient les antigènes, situés à la surface des cellules cibles, par leur domaine Fab. Une fois « liés », les fragments Fc deviennent accessibles pour interagir avec les récepteurs Fc présents à la surface des leucocytes.

Un récepteur Fc, de type CD16, exprimé à la surface des cellules NK, active la production, par ces mêmes cellules, de cytokines (interféron gamma, TNF) et la libération des protéines cytotoxiques contenues dans leurs granules. Le processus de lyse cellulaire des cellules NK au cours de ce phénomène de cytotoxicité dépendante des anticorps (ADCC) est proche de celui des lymphocytes T cytotoxiques mais, dans ce cas précis, la spécificité est conférée par les anticorps et non par le récepteur T.

La libération de cytokines (chemokines) et de molécules d'adhésion est à l'origine d'une augmentation de la perméabilité endothéliale et du recrutement des monocytes.

Les monocytes recrutés, vont se différencier en macrophages, lesquels verront leurs propres fonctions effectrices accrues par l'interféron gamma produit, in situ, dans le greffon : ils peuvent agir comme des cellules présentatrices d'antigènes et possèdent des récepteurs Fc de haute affinité.

Les macrophages interviennent en phase aiguë et chronique. Cependant leur rôle exact au cours du rejet à médiation humorale est imparfaitement élucidé.

Il faut noter le cas particulier des immunoglobulines E : la réponse IgE contre les produits du CMH n'est pas observée en transplantation clinique. Ceci est peut-être dû à la grande quantité d'interféron gamma et autres cytokines Th-1 like produites au cours du rejet qui promeuvent la réponse immune cellulaire et de ce fait supprime la réponse allergique. En transplantation clinique, éosinophiles, basophiles et mastocytes sont parfois observés dans le rejet mais ils ne sont jamais prédominants et leur signification est mal déterminée.

## **D. Prévention du rejet d'allogreffe : crossmatch et traitements immunosuppresseurs**

### **1. Typage HLA et dépistage des anticorps anti-HLA avant transplantation chez les patients inscrits sur liste d'attente**

Ce dépistage nécessite le recours aux techniques de microlymphocytotoxicité, mais aussi ELISA que nous décrirons plus loin. La recherche est effectuée de façon systématique tous les mois et au décours de tout événements immunisants : transfusions, grossesse, transplantectomies de greffons antérieurs. On définit ainsi un taux de PRA (« panel réactive antigen ») permettant de distinguer les sujets immunisés (taux de PRA>10%) et les sujets hyperimmunisés (taux de PRA>80%).

### **2. Respect des règles classiques d'allocation des greffons (33)**

Pour les patients hyperimmunisés (PRA>80%), on définit des antigènes permis. En terme d'attribution des greffons, la priorité leur est accordée lorsque l'on se trouve en situation de « fullmatch ». Il en va de même, pour les patients dont le taux de PRA est compris entre 5 et 79%. Enfin, les transplantations ABO compatibles mais non identiques sont autorisés pour les sujets hyperimmunisés : les patients de groupe sanguin A ou B peuvent recevoir des greffons de groupe O, les patients de groupe sanguin AB peuvent recevoir des greffons O, A ou B.

### **3. Le crossmatch (34, 11)**

Le crossmatch en prétransplantation a pour objectif de détecter la présence d'anticorps préformés au sein du sérum du receveur, dirigés contre des antigènes du donneur notamment portés par les lymphocytes B et T de ce dernier et donc d'éviter la survenue d'un rejet hyperaigu, actuellement rare. Un crossmatch positif en lymphocytotoxicité, notamment lorsqu'il intéresse les cellules T, est une contre-indication à la greffe.

Les crossmatch ont été introduits en transplantation clinique courante depuis la fin des années 1960. Des auteurs tels que Terasaki, Mc Clelland, Kismeyer-Nielsen et Kjerbye développèrent les techniques de détection des anticorps anti-HLA par microlymphocytotoxicité. Ces limites conduirent au développement ultérieur d'autres méthodes.

Différentes techniques de crossmatch sont à ce jour utilisées :

- Microlymphocytotoxicité : CDC et AHG-CDC
- ELISA
- Cytométrie de flux

#### **a) Technique de crossmatch par microlymphocytotoxicité :**

C'est la méthode la plus utilisée pour la détection d'anticorps anti-HLA avant transplantation. Le sérum du patient est incubé séparément avec les cellules B et les cellules T du donneur. Le complément est ajouté à la solution afin de promouvoir la lyse cellulaire qui sera ensuite détectée. L'augmentation du temps d'incubation du complément, accroît la

sensibilité du test et permet de détecter de faible taux d'anticorps

. Cette technique de crossmatch par microlymphocytotoxicité ou CDC détecte essentiellement les anticorps de haute affinité de type IgG et fixant efficacement le complément. Pourtant de nombreux anticorps dirigés contre des antigènes publiques typiquement retrouvés chez les patients hyperimmunisés ne sont pas mis en évidence en microlymphocytotoxicité classique.

Cette technique comporte ainsi plusieurs limites :

- Elle est peu sensible,
- Elle ne détecte que les anticorps liant le complément, à savoir les immunoglobulines de type IgG et IgA,
- Elle ne permet pas de définir la spécificité HLA des anticorps,
- Elle comporte un certain nombre de faux positifs : les auto-anticorps notamment de type lupique, les complexes immuns.

Le crossmatch par microlymphocytotoxicité peut être sensibilisé par l'adjonction d'une globuline anti-humaine ou AHG-CDC : l'antiglobuline est ajoutée au test avant le complément ; elle favorise la fixation du complément en liant les anticorps anti-HLA entre eux. Ce test est plus sensible car il permet de détecter des anticorps présents à des taux plus faibles et/ou non-cytotoxiques.

#### b) Technique de crossmatch par ELISA ( enzyme-linked immunoabsorbent assay)

La technique ELISA à recours à des antigènes HLA de classe 1 ou 2 purifiés ou solubilisés, du donneur, et fixés sur une plaque. Le sérum du patient est ajouté, suivi d'un second anticorps lié à une enzyme et dirigé contre les immunoglobulines G anti-humaines. L'interprétation des résultats est effectuée par comparaisons des mesures de densités optiques. Ni les lymphocytes viables, ni la fixation du complément ne sont ici nécessaires. Elle n'est pas non plus soumise aux interférences dues aux drogues immunosuppressives, au sérum anti-lymphocytaire ou l'anticorps monoclonal anti-CD3 (OKT3), contrairement aux méthodes par microlymphocytotoxicité. Enfin la spécificité (HLA) peut également être déterminée en ELISA. Elle permet donc un dépistage systématique des anticorps anti-HLA chez les patients en attente de greffe. (35)

Différentes équipes ont développé une nouvelle application de la technique ELISA, appelée GTIQS : celle-ci utilise des molécules HLA solubles pour cibles (36).

#### c) Technique de crossmatch par cytométrie de flux

Technique la plus sensible, elle ne comporte que 5 à 10% de cas de faux positifs. Elle est capable de détecter de très faibles taux d'anticorps circulants qu'ils fixent ou non le complément. Sa place est cependant controversée. En effet la cytométrie de flux n'étant pas de pratique courante pour les crossmatch finaux avant transplantation, des greffes ont pu avoir lieu en dépit d'un crossmatch rétrospectif positif par cytométrie de flux (avec toujours un crossmatch T en lymphocytotoxicité négatif). De tels crossmatch positifs par fluorocytométrie sont fréquemment associés à un nombre plus élevés d'épisodes de rejets aigus, et a une moins bonne survie des greffons a 1 an après retransplantation, mais aussi à l'occasion d'une première greffe (37, 38) Dans une étude publiée en 1998, M.C.Bittencourt retrouvait également une moins bonne survie des greffons après un crossmatch B positif par cytométrie de flux. En effet les crossmatch B positif, de façon générale, et par cytométrie de flux en

particulier ont une signification controversée : cette positivité peut être le fait d'anticorps dirigés contre des antigènes non HLA, contre des antigènes HLA de classe 2 ou de classe 1, les deux étant exprimés à la surface des cellules B. Toutefois, le recours plus fréquent au crossmatch par cytométrie de flux, a permis une amélioration de la survie des greffons chez les patients allo-immunisés

Un crossmatch T positif en microlymphocytotoxicité est classiquement considéré comme une contre-indication à la transplantation rénale. L'attitude vis-à-vis du crossmatch B est moins univoque selon les équipes, et sa positivité ne constitue pas une contre-indication formelle.

Nous verrons toutefois que l'évolution actuelle, en particulier la pénurie de greffons disponibles, l'essor de la transplantation à partir de donneurs vivants et surtout l'émergence de nouveaux concepts concernant les mécanismes de rejet d'allogreffe et donc l'évolution des thérapeutiques, conduisent à la remise en question des dogmes précédemment établis.

#### **4. Les traitements immunosuppresseurs (39, 40, 41, 42, 43)**

##### **a) Base des différentes stratégies immunosuppressives : modèle des 3 signaux d'activation lymphocytaire T**

Le premier signal résulte de la présentation de l'antigène au récepteur T par la cellule présentatrice d'antigène, lequel signal est transmis via le complexe CD3 au niveau intracellulaire.

Le second signal, ou signal de costimulation, résulte de la l'interaction d'un ligand de costimulation, tel que B7-1 (CD80) ou B7-2 (CD86) à la surface de la cellule présentatrice d'antigène avec le récepteur CD28 sur la membrane du lymphocyte T. en l'absence de second signal, les cellules T deviennent anergiques ou évoluent vers l'apoptose. Inversement, lorsque les cellules T sont activées, le facteur de régulation CTLA4 ou CD152, est exprimé à sa surface membranaire. Celui-ci présente une affinité pour B7-1 et B7-2 de 500 à 2500 fois plus importante que CD28. CTLA4 inhibe donc la stimulation des lymphocytes T.

Ces 2 premiers signaux activent des voies de signalisation intracellulaires conduisant à la synthèse d'interleukine 2 et autres facteurs de croissance.

L'activation du récepteur de l'interleukine 2 (CD25) active à son tour mTOR qui fournit le 3<sup>ème</sup> signal déclenchant la prolifération lymphocytaire.

##### **b) Les corticostéroïdes**

Les corticostéroïdes ont pour principal effet immunosuppresseur, celui de réduire la synthèse des cytokines et leurs récepteurs produits par les cellules T et cellules présentatrices d'antigène. Les corticostéroïdes sont des molécules hydrophobes diffusant en intra-cellulaire, se fixant sur des récepteurs cytoplasmiques associés à la protéine HSP de 90kDa. La protéine HSP est alors dissociée ; le complexe stéroïde-récepteur est transloqué vers le noyau où il fixe une séquence nucléotidique GRE (éléments de réponse aux glucocorticoïdes). Les séquences GRE sont situées sur les séquences promotrices de différentes cytokines. Les corticostéroïdes inhibent également la translocation vers le noyau de NF kappa B (facteur transcriptionnel induisant la synthèse de nombreuses autres cytokines). Ils inhibent donc la synthèse des interleukines 1 ; 2 ; 3 et 6 ; TNF alpha et IFN

gamma, de sorte que tous les stades de l'activation des lymphocytes T sont entravés.

### c) Les inhibiteurs de la calcineurine

Les anticalcineurines inhibent virtuellement de façon sélective la réponse immune. Ils ne sont théoriquement pas myélosuppressifs et n'interfèrent pas avec les fonctions phagocytaires des polynucléaires neutrophiles.

Bien qu'ayant un mode d'action similaire, tacrolimus et cyclosporine sont 2 molécules différentes.

La cyclosporine est un polypeptide cyclique de 11 amino-acides d'origine fongique, tandis que le tacrolimus est un macrolide isolé à partir de culture de *Streptomyces tsukubaensis*.

La cyclosporine d'une part, le tacrolimus d'autre part se lient à un récepteur cytoplasmique, respectivement, la cyclophiline et le tacrolimus binding-protein (FKBP). Chacun de ces complexes est apte à fixer la calcineurine, protéine phosphatase dont la fonction habituelle est de déphosphoryler certaines protéines régulatrices nucléaires telles que le facteur nucléaires d'activation des cellules T (NFAT), facilitant ainsi leur translocation nucléaire.

L'inhibition de la calcineurine, par le tacrolimus ou la cyclosporine, altère le niveau d'expression de certains gènes de cytokines impliqués dans l'activation des cellules T tels que les gènes de l'interleukine 2, 4, de l'interféron gamma et TNF alpha mais aussi des gènes CD40l, des protooncogènes H-ras et c-myc. La résultante en est une réduction de la prolifération lymphocytaire.

Dans le cas particulier de la cyclosporine, on observe une augmentation du niveau de TGF bêta lequel inhibe à son tour l'interleukine 2 et l'activation des cellules T cytotoxiques d'une part et induit une fibrose interstitielle d'autre part.

### d) L'acide mycophénolique : mycophénolate mofetil et mycophénolate sodique

Utilisé en transplantation clinique depuis 1995, le mycophénolate mofetil est une prodrogue issue de la fermentation de *Penicillium species*. Sa forme active est l'acide mycophénolique.

L'acide mycophénolique est un inhibiteur enzymatique réversible de l'inosine monophosphate déhydrogénase (IMPDH). L'IMPDH est impliquée dans la synthèse de novo des purines et catalyse la formation de guanosine à partir des purines.

L'acide mycophénolique est donc un antimétabolite d'action théoriquement sélective sur les lymphocytes B et T

In vitro, l'acide mycophénolique inhibe la prolifération des lymphocytes B et T, la génération d'anticorps, l'apparition de molécules d'adhésion à la surface des lymphocytes et donc la fixation de ces derniers sur la paroi endothéliale. L'acide mycophénolique participe également au traitement des épisodes de rejet aigu en inhibant le recrutement des monocytes sur les sites de rejet, prévenant ainsi l'interaction de ces cellules avec les cellules cibles. Après une prise orale, l'acide mycophénolique, est rapidement inactivé par glucuronidation. Son pic sérique est atteint en deux heures, pour ensuite être rapidement indétectable. Il semble rapidement éliminer par les lymphocytes ; de précédentes études basées sur les mitogènes retrouvaient des taux d'inosine monophosphate déhydrogénase (cible du MMF) rapidement restaurés après administration de drogues. Néanmoins, l'acide mycophénolique interférerait avec la glycosylation des protéines, expliquant ses effets à long terme (43).

Enfin, dans le cadre du rejet chronique, il prévient le développement des lésions d'artério- et d'artériolosclérose.

### e) Les inhibiteurs de mTOR : sirolimus et everolimus

mTOR ou « mammalian target of rapamycin » est une protéine kinase centrale dans la régulation de la division cellulaire.

Les inhibiteurs de mTOR se lient à une protéine cytoplasmique : FKBP ou « tacrolimus-binding protein ». Le complexe ainsi formé a pour cible, non pas la calcineurine mais la protéine mTOR dont l'inhibition altère la prolifération cellulaire dépendante des cytokines et bloque la cellule en phase G1, l'empêchant de progresser vers la phase S.

Ces inhibiteurs de mTOR ne sont pas spécifiques des lymphocytes.

### f) Les anticorps monoclonaux

**L'OKT3** est un anticorps monoclonal de type IgG d'origine murine. Il résulte de l'hybridation d'un lymphocyte B de murin sécrétant des anticorps avec une cellule myéломateuse non sécrétante.

L'OKT3 a pour cible les lymphocytes T : il se fixe sur une sous-unité de 20kDa du complexe CD3 du récepteur des lymphocytes T. Il s'ensuit une inactivation des récepteurs T qui sont alors endocytés et disparaissent de la surface cellulaire. Les cellules T inactivées sont ensuite éliminées de la circulation périphérique par phagocytose. L'OKT3 cible ainsi différents types de cellules T : CD4+, CD8+, CD11+.

La réapparition des cellules T en fin de traitement peut être due à la formation d'anticorps neutralisants, dont l'impact est minimisé par l'association de l'OKT3 à un inhibiteur de la calcineurine.

#### **Les anticorps monoclonaux anti-CD25 (daclizumab et basiliximab).**

Utilisés en prévention des épisodes de rejet, dont ils sont censés réduire l'incidence, ces composés ont pour cible la protéine CD25 correspondant à la sous-unité alpha du récepteur de l'interleukine 2. Leur action est donc complémentaire à celle des inhibiteurs de la calcineurine.

#### **Autres anticorps monoclonaux d'utilisation plus rare en transplantation**

- Le rituximab, anticorps monoclonal anti-CD20, entraînant une déplétion des lymphocytes B. En transplantation clinique, il fut utilisé pour réduire le taux d'anticorps anti-HLA chez les sujets hyperimmunisés, pour la négativation des crossmatch en cas de greffe à partir de donneurs vivants ou d'incompatibilité ABO. Il constitue également un recours potentiel dans le traitement du rejet aigu à médiation humorale.

- Anticorps ciblant les molécules d'adhésion (ICAM)

#### **Les anticorps polyclonaux**

Il s'agit actuellement le plus souvent de thymoglobulines, obtenues par immunisation d'un lapin contre des thymocytes humains. Les anticorps polyclonaux ainsi développés seraient pour partie des anticorps cytotoxiques dirigés contre des marqueurs des lymphocytes T. Les thymoglobulines entraînent donc une importante déplétion lymphocytaire; les lymphocytes T sont éliminés par le système réticulo-endothélial, lysés, leurs marqueurs de surfaces masqués par les anticorps.

## g) Les nouvelles drogues immunosuppressives

### **FTY720**

Nouvel immunosuppresseur correspondant un analogue structural de la myricine, dérivé des herbes chinoises. FTY720 réoriente le phénomène de « homing » des lymphocytes B et T, l'objectif étant de réduire le taux de lymphocytes B et T dans le sang périphérique et de le majorer au niveau des ganglions lymphatiques et plaques de Peyer.

Son mécanisme d'action repose sur l'activation d'un récepteur membranaire lymphocytaire couplé à une protéine G, appartenant à la famille EDG (famille des gènes de différenciation endothéliale). Ces récepteurs sont impliqués dans les processus de mobilité lymphocytaire, et un certain nombre d'entre eux ont pour ligand commun la sphingosine-1-phosphate avec lequel FTY720 présente des analogies structurales.

FTY720 favorise la séquestration des lymphocytes B et T dans les organes lymphatiques. Il s'ensuit une lymphopénie périphérique et une régression de l'infiltrat lymphocytaire dans le greffon.

Le développement de FTY720 a été interrompu dans l'indication de transplantation mais se poursuit dans le traitement de la SEP.

### ***E. Diagnostic de rejet humoral : alloanticorps et dépôts de C4d dans les capillaires périrubulaires***

Selon différentes études, l'incidence du rejet aigu humoral serait en augmentation (0 à 8%). A cela, plusieurs causes peuvent-être évoquées (44): meilleure définition des lésions histologiques ; meilleures techniques de détection des alloanticorps spécifiques anti-donneurs ; augmentation des « retransplantations » ; augmentation des patients hyperimmunisés inscrits sur liste d'attente ; augmentation des transplantations ABO- ou HLA-incompatibles pour pallier au manque d'organes.

Les possibilités de diagnostic du rejet humoral furent longtemps entravées par les multiples aspects histologiques qu'il peut revêtir et que nous avons décrit précédemment. L'émergence du C4d a permis des possibilités diagnostiques plus rigoureuses. Initialement décrits par Feucht, R. Collins démontrera par la suite que les dépôts de C4d dans les capillaires périrubulaires sont des marqueurs sensibles de la présence d'anticorps antidonneur (45,46).

En présence de dépôts significatifs de C4d dans les capillaires périrubulaires et/ou présence d'alloanticorps spécifiques anti-donneurs, le taux de créatininémie et le taux de perte du greffon, pour causes immunes, sont plus élevés.

#### **1. Les alloanticorps en transplantation rénale**

Le rejet à médiation humorale implique la présence dans le sang circulant, qu'ils soient détectés ou non d'alloanticorps anti-donneur, anti-HLA, anti-ABO ou anti-endothéliaux non-HLA.

Au sein de cette entité, on distingue le rejet hyperaigu, résultant de façon exclusive de ce mécanisme: des anticorps préformés cytotoxiques et spécifiquement dirigés contre le donneur, entraînent la perte du greffon en moins de 24 heures après la transplantation d'une

part, les rejets humoraux aigus et chroniques d'autre part.

Le rejet humoral aigu survient au-delà de 24 heures, la forme chronique survenant au-delà de la première année.

Les rejets humoraux survenant de novo, aigus ou chroniques, s'observent chez des patients ne présentant pas d'anticorps préformés et qui ont un crossmatch négatif avant transplantation.

Les procédés de désensibilisation étant plus fréquents, les rejets médiés par les anticorps surviennent en contexte de préconditionnement pour transplantation avec crossmatch positif ou incompatibilité ABO.

Les rejets médiés par les anticorps survenant après désensibilisation semblent se comporter différemment que ceux de novo. Ils répondent plus rapidement aux traitements ; mais il existe un biais d'interprétation car de tels patients sont surveillés de façon plus étroite.

Les anticorps anti-donneurs de façon générale et anti-HLA en particulier sont à l'origine de dysfonction aigue précoce, mais aussi tardive chronique du greffon qu'ils peuvent dans ce cas précis précéder de plusieurs mois.

En 1966, Kissmeyer-Nielsen montre ainsi que rejet hyperaigu, rejet aigu et dysfonction tardive sont associés à la présence d'anticorps spécifiques anti-donneur notamment de type anti-HLA, et à un taux de PRA élevé en pré-transplantation. Les secondes transplantations ont ainsi une survie plus brève que les premières transplantations.

Les receveurs développant des anticorps spécifiques anti-donneurs anti-HLA expérimentent plus d'épisodes de rejets. Dans certaines études le taux d'anticorps serait même corrélé à la sévérité du rejet.

En revanche, les patients ne développant pas d'anticorps anti-HLA en post-transplantation ont une meilleure fonction du greffon.

Les patients qui présentent des anticorps anti-HLA en post-transplantation, ont plus fréquemment une dysfonction tardive du greffon, les pertes de greffon chez de tels sujets étant plus précoce.

Des anticorps anti-HLA, dirigés contre les deux classes du complexe majeur d'histocompatibilité, présentées par l'ensemble des cellules du greffon interviennent dans cette dysfonction.

De façon générale, les anticorps anti-HLA de classe 1 sont considérés comme plus délétères que les anticorps anti-HLA de classe 2. Au sein des anticorps anti-HLA de classe 2, les anticorps anti-DR sont les plus délétères. En cas de transplantation combinée rein-pancréas ces anticorps anti-HLA de classe 2 semblent néanmoins constituer un facteur de dysfonction du greffon pancréatique.

L'endothélium, première structure du greffon rencontrée par les alloanticorps, constitue à ce titre une cible privilégiée. Comme vu précédemment, il peut présenter à sa surface des antigènes HLA de classe 1 et de classe 2 après stimulation. Ainsi tous les alloanticorps détectés dans le sérum ne semblent pas réagir contre l'endothélium du greffon *in vivo*. C'est notamment le cas des alloanticorps dirigés contre les antigènes HLA DP et DQ, non exprimés de façon constitutive par l'endothélium, mais seulement après stimulation de ce dernier par l'interféron gamma (47).

L'implication d'anticorps autres que les anticorps anti-HLA est suggérée par les rares cas de pertes de greffons HLA identiques des suites d'un rejet aigu à médiation humorale apparent.

La détection d'anticorps dirigés contre des antigènes non HLA de l'endothélium ou de



monocytes est associée à des lésions artérielles.

En 1985, Cerilli publia des travaux portant sur le système cellulaire endothélial : Isolement d'anticorps dirigés contre des antigènes exprimés sur les cellules endothéliales de patients expérimentant un rejet aigu. Les sérums obtenus réagissent avec les cellules endothéliales et les monocytes mais non avec les lymphocytes B et T contrairement aux anticorps anti-HLA de classe 1 ou 2.

En transplantation rénale les patients, développant des anticorps anti-cellules endothéliales sont à risque de rejet aigu et de dysfonction tardive du greffon. Il en va de même en transplantation cardiaque.

On peut également citer en exemple l'accroissement soudain des pertes de greffons observées en transplantation rénale pédiatrique vers la fin des années 80. Ces rejets avaient lieu en présence d'anticorps de type IgM dirigés contre les cellules endothéliales en l'absence de signes évidents d'implications des anticorps anti-HLA.

### a) Alloanticorps et physiopathologie des différentes présentations cliniques du rejet humoral en transplantation rénale

#### *(1) Le rejet hyperaigu*

Comme évoqué précédemment, le rejet hyperaigu est initié par les alloanticorps spécifiques antidonneurs préformés présents dans la circulation au moment de la transplantation, liant l'endothélium du greffon et activant le complément. Le rejet hyperaigu classique survient rapidement, dans les minutes ou dans les heures qui suivent le déclampage des anastomoses vasculaires. Ces alloanticorps sont à l'origine d'une destruction de la microcirculation du greffon.

Dans le cas particulier du rejet hyperaigu, l'extension de l'activation du complément par les alloanticorps dépasse les capacités des régulateurs circulants et membranaires du complément.

L'activation du complément permet le recrutement des polynucléaires neutrophiles, lesquels lèsent l'endothélium, initient la coagulation par exposition du sous endothélium et activation plaquettaire.

La séquestration des polynucléaires neutrophiles dans les capillaires péri-tubulaires et les glomérules, évolue vers la thrombose, l'hémorragie, et la nécrose corticale.

De telles lésions médiées par les anticorps, même non détectables par les tests usuels in vitro, peuvent aussi survenir.

Ainsi de larges quantités d'alloanticorps anti-HLA de classe 1; anti-A ou anti-B et dans une moindre mesure anti-HLA de classe 2 peuvent causer d'importants dégâts. Des quantités plus faibles ou une production progressive seraient mieux tolérés probablement par adaptation endothéliale ou modulation antigénique.

Les anticorps anti-donneurs anti-HLA de classe 1 sont des facteurs de rejets précoces sévères en particulier chez les sujets hyperimmunisés. Ces rejets surviennent le plus souvent dans la première semaine en post-transplantation et notamment sur des greffons fonctionnant bien initialement. De tels patients ont été préalablement immunisés contre les antigènes du donneur, le taux d'anticorps étant indétectable au moment de la transplantation, le crossmatch du jour est alors négatif. Ceci souligne l'importance d'identifier les patients hautement immunisés, des crossmatch historiques et de la cytométrie de flux.

## ***(2) Le rejet humoral aigu***

Le rejet humoral aigu survient typiquement une à trois semaines après transplantation et résulte de la stimulation des cellules B mémoires suite à l'exposition antigénique. La réponse anamnésique entraîne la production rapide d'anticorps anti-HLA de classe 1 et 2.

Il peut s'observer plus tardivement par diminution de l'immunosuppression du fait d'une non-compliance, d'un catabolisme, d'une réduction de l'immunosuppression ou d'un management inapproprié.

L.C. Racusen en 2004 (48) distinguait trois types de rejet humoraux aigus, selon des critères clinico-pathologiques:

1. Le type 1 montre une atteinte tubulo-interstitielle discrète (œdème, inflammation légère et lésions tubulaires) avec des dépôts capillaires d'immunoglobulines et de C4d.
2. Le type 2 associe une glomérulite et/ou une capillarite à polynucléaires avec, toujours, dépôts d'immunoglobulines et de C4d.
3. Le type 3 présente des lésions d'artérite avec, là aussi, des dépôts d'immunoglobulines et de C4d.

Dans ces trois situations, la présence concomitante d'anticorps antidonneur doit-être affirmée pour le diagnostic définitif.

## ***(3) Le rejet chronique***

Les alloanticorps interviennent également en phase chronique. Divers facteurs de risque de développement du rejet chronique ont été identifiés :

- rejets aigus tardifs
- âge et race
- immunisation et lésions en pré-transplantation
- incompatibilités HLA
- immunosuppression inadéquate.

Un aspect histologique particulier de ce rejet chronique, déjà évoqué en amont, est la glomérulopathie du transplant, terme proposé dès 1964 par Hamburger (49). Elle se traduit cliniquement par une dysfonction progressive du greffon et la majoration d'une protéinurie.

La lésion la plus caractéristique de la glomérulopathie du transplant est donc la duplication de la membrane basale glomérulaire.

La membrane basale glomérulaire est une membrane basale spécialisée dans l'ultrafiltration. Elle comporte de nombreuses molécules matricielles : fibronectine, collagène, héparane sulfate protéoglycane.

Expérimentalement, l'injection chez le rat d'un anticorps dirigé contre la membrane basale glomérulaire induit une désorganisation de cette dernière et l'apparition d'une protéinurie. Par ailleurs, lors de glomérulopathies sévères, on constate une diminution de la quantité d'héparane sulfate protéoglycane, dans la membrane basale glomérulaire et notamment d'agrine.

Ceci conforte les constatations cliniques concernant l'implication d'anticorps non-HLA dans la genèse de la glomérulopathie d'allogreffe.

La pathogénie de la glomérulopathie du transplant est imparfaitement connue : elle résulte probablement des réponses allo-immunes persistantes et répétées, humorale mais aussi cellulaire, dirigées contre l'endothélium. La duplication (fragmentation) de la membrane basale glomérulaire semble être ainsi un reflet du rejet humoral.

Ce fait est illustré par les constats de différents auteurs :

Pour Regele, les dépôts de C4d dans les capillaires péri-tubulaires seraient observés dans 50% des cas de glomérulopathie.

Pour Mauiyyedi, ces mêmes dépôts sont retrouvés dans 61% des cas de glomérulopathie ou d'artériopathie du transplant. La plupart sont associés à des alloanticorps anti-donneur de type anti-HLA. Néanmoins, la pathogénie des cas C4d négatifs ne semble pas différente. Ceci souligne l'intérêt de la réduction du taux d'anticorps anti-HLA dans le rejet humoral chronique notamment par l'association tacrolimus /mycophénolate mofetil.

La glomérulopathie du transplant serait ainsi moins fréquente avec les nouvelles drogues immunosuppressives.

Au sujet de l'implication des différents types d'alloanticorps, HLA ou non-HLA, S.Joosten publia en 2005 (49), une étude portant sur 16 patients greffés rénaux entre 1983 et 2001 à Leiden. Ces 16 patients avaient une glomérulopathie d'allogreffe, confirmée histologiquement en microscopie optique et en immunofluorescence (prépondérance des dépôts d'immunoglobulines G. Les patients porteurs d'une glomérulonéphrite récurrente ou de novo, mais aussi ceux ayant une sérologie positive pour le virus de l'hépatite C étaient exclus.

Elle constatait dans un premier temps que les sérums de ces patients, prélevés au moment de la biopsie, comportaient des anticorps réagissant contre des fragments de membrane basale glomérulaire, contrairement au sérum des patients d'un groupe contrôle (greffés rénaux exempts de toute glomérulopathie du transplant).

Elle retrouvait, ensuite des anticorps anti-membrane basale glomérulaire de type IgG, chez 11 de ces 16 patients (contre 3 dans le groupe contrôle). Notons que ces anticorps anti-membrane basale glomérulaire n'étaient pas dirigés contre le domaine NC1 de la chaîne alpha 3 du collagène 4 (l'antigène de Goodpasture). Sept patients avaient en revanche des anticorps réagissant contre les protéoglycannes de type héparane sulfate, agrine et perlecan, de la membrane basale glomérulaire. Ces IgG seront purifiées. En immunofluorescence indirecte sur des sections de reins humains normaux, elles constituent des dépôts glomérulaires et interstitiels, notamment au niveau de la membrane basale glomérulaire. Les capsules de Bowmann et des membranes basales tubulaires sont également soulignées. Elle note enfin une colocalisation des IgG avec anticorps monoclonaux anti-agrine au niveau du glomérule et plus spécifiquement au niveau de la membrane basale glomérulaire. Toutefois, les IgG reconnaissent aussi des antigènes situés au niveau de la membrane basale tubulaire et non reconnus par les anticorps anti-agrin.

Des alloanticorps de type anti-HLA étaient présents chez 8 de ces 16 patients, seuls ou en association avec des anticorps anti-membrane basale glomérulaire.

Elle concluait donc que les anticorps anti-agrine et anti-perlecan semblent jouer un rôle dans la pathogénie de la glomérulopathie du transplant. Ces protéoglycannes interviennent dans la structure de la membrane basale glomérulaire, en particulier conditionnent sa perméabilité. Leur altération conduit à des modifications structurales de la membrane basale mais aussi à une fuite protéique. Ceci est confirmé expérimentalement : l'injection chez le rat d'anticorps anti-héparane sulfate, induit une duplication de la membrane basale glomérulaire et une protéinurie. Cependant l'on ne sait avec certitude si la génération des alloanticorps anti-membrane basale glomérulaire précède ou suit l'apparition de la protéinurie, en d'autres termes si ces anticorps sont la cause ou la conséquence de la glomérulopathie. La présence de ces alloanticorps anti-membrane basale glomérulaire est, dans cette série, également corrélé à un nombre plus élevés d'épisodes de rejet : ceci conforte

l'hypothèse que les anticorps anti-membrane basale glomérulaire, présents dans la circulation, sont le résultats de dommages du greffon et d'une exposition d'épitopes cryptiques à l'occasion des épisodes de rejet antérieurs ou en cas de dysfonction primaire du greffon. Les alloanticorps anti-donneurs de type anti-HLA, seraient alors une cause indirecte de la genèse des alloanticorps anti-membrane basale glomérulaire. Cependant, ces anticorps reconnaissent également les membranes basales non altérées de sections de reins normaux, mais ne fixent pas les tissus pulmonaires, cutané, ou musculaire, dans lesquels se trouvent aussi des molécules d'agrine. Les deux hypothèses étant toutefois non mutuellement exclusives.

L'alloimmunité humorale, intervient également, dans la genèse de lésions de néphropathie chronique du transplant, aux côtés de l'alloimmunité cellulaire, et d'autres facteurs non immunologiques. (50)

### b) Dépôts de C4d dans les capillaires péri-tubulaires en transplantation rénale

Révéler par les travaux de Feucht à la fin des années 1980, l'intérêt du C4d pour le diagnostic du rejet humoral réside dans la liaison covalente qu'il contracte sur le site d'activation du complément. Le C4d est un marqueur dynamique à demi-vie longue, qui peut s'accumuler et disparaître en quelques jours voir quelques mois, suite à la dégradation par des enzymes tissulaires.

Les dépôts d'immunoglobulines sont rarement observés, car rapidement éliminés par détachement ou internalisation par les cellules endothéliales.

Le C4d correspond au domaine alpha-2 de la fraction C4 du complément, et est généré lors de l'activation de ce dernier par la voie classique. Les dépôts de C4d dans les capillaires péri-tubulaires en post-transplantation immédiate sont la conséquence de l'action sur l'endothélium du greffon d'alloanticorps anti-donneurs préformés, ayant échappé aux techniques conventionnelles de dépistage par crossmatch soit d'alloanticorps *de novo* apparus rapidement après greffe. Ces derniers seraient à l'origine des dépôts constatés en phase tardive. (51, 52)

En effet, (1) les anticorps dirigés contre les antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité et/ou endothéliaux, ainsi que la plupart des composants du complément sont rapidement éliminés de la surface endothéliale soit par endocytose des complexes antigènes membranaires-alloanticorps par les cellules endothéliales, soit par action du courant sanguin ou fixation à d'autres protéines circulantes (51). Ils échappent alors aux techniques usuelles de détection. Ainsi les différentes tentatives de mise en évidence du complexe terminal d'attaque membranaire échouèrent. En revanche les facteurs C4d et C3d établissent une liaison covalente thioester résistant à élimination rapide et sont donc des marqueurs durables de l'activation par la voie classique du complément.

Les dépôts de C4d peuvent être détectés par différentes techniques : immunofluorescence indirecte ou technique d'immunopéroxydase sur des coupes cryocongelées ou incluses dans la paraffine.

En cas de dysfonction chronique du greffon les dépôts de C4d au niveau des tubules atrophiques sont considérés comme non spécifiques.

Que ce soit en immunofluorescence sur des coupes cryocongelées, ou par une immunopéroxydation sur coupes incluses dans la paraffine, des dépôts de C4d peuvent également être retrouvés dans les glomérules. En effet le complément présente une activation

physiologique au sein des glomérules humains : il existe ainsi un turn over physiologique continu des complexes immuns circulants, à l'origine de dépôts observés dans le mésangium, les artérioles et au pôle vasculaire des glomérules normaux.

En cas d'affections auto-immunes médiées par les complexes immuns circulants, des dépôts peuvent être observés dans les capillaires glomérulaires.

Ce ne sont donc que dans les greffons rénaux que sont retrouvés des dépôts focaux ou diffus de C4d dans les capillaires pérیتubulaires, le mode de présentation focale étant considérée comme une phase de transition.

Sur un plan strictement théorique, dans le cadre du rejet humoral, le C3d pourrait être un marqueur de diagnostic supérieur au C4d, car l'activation du complément par la voie classique atteint son maximum au niveau de C3 lequel est également impliqué dans la voie alterne. Pourtant, en pratique, seuls les dépôts de C4d sont informatifs. En effet de nombreux tissus, dont le rein, peuvent produire le fragment C3, de sorte que des dépôts diffus de C3d peuvent être observés dans les tissus normaux et ainsi masquer un processus immunologique. De plus, les dépôts de C3d peuvent résulter d'une activation du complément par la voie alterne. Ainsi, des dépôts tissulaires de C3d peuvent résulter d'une boucle d'amplification liée à la formation « d'une C3 convertase alterne » correspondant à l'association de C3b et du facteur B de la voie alterne (7). Par ailleurs, des inhibiteurs de l'activation du C3 in vivo peuvent diminuer l'importance de ces dépôts.

Néanmoins, pour certains auteurs, des dépôts de fragments C3 le long de la membrane basale tubulaire, seraient associée à une survie réduite des greffons. (52).

Il peut ainsi résulter d'une boucle d'amplification liée à la formation d'une « C3 convertase alterne » (association de C3b avec le facteur B de la voie alterne).

### *(1) Prévalence des dépôts de C4d*

Variable selon les séries, pour certains auteurs, la prévalence des dépôts significatifs de C4d serait de 50% en cas de reprise différée de la fonction du greffon, de 30% en cas de rejet aigu et de 60% en cas de rejet chronique. Ces estimations doivent néanmoins être pondérées par le fait que leur véritable incidence ne pourrait être estimée que par des biopsies protocolaires.

Dans une étude publiée par H. E. Feucht en 2001(53, 54), et portant sur 218 patients transplantés à partir de donneurs cadavériques entre 1982 et 1987 à Munich, celui-ci retrouvait 48% de dépôts de C4d significatifs dans les capillaires pérیتubulaires, sur les biopsies de greffons de patients étant à leur première transplantation, et 72% en cas de deuxième ou troisième transplantation. Les biopsies avaient été réalisées en raison de d'une dysfonction ou d'une protéinurie persistante. Ces dépôts de C4d étaient plus fréquemment associés en microscopie optique à des lésions compatibles avec un rejet vasculaire ; mais étaient également observés en association avec des lésions de nécrose tubulaire aiguë ou différentes formes de glomérulonéphrite du transplant.

Il notait également que les dépôts de C4d dans les capillaires pérیتubulaires, précoces, étaient significativement associés à la perte de greffon, aux retransplantations, aux taux élevés de PRA, âge du donneur supérieur à 45 ans.

Ainsi les greffons présentant des dépôts précoces de C4d, à savoir dans les 6 premiers mois, auraient une survie réduite (50% à 16 mois) par rapport à ceux présentant des dépôts

tardifs de C4d, au-delà des 6 mois : médiane de survie des greffons avec dépôts tardifs de C4d, serait au-delà du 38<sup>ème</sup> mois. De sorte que l'alloimmunité humorale survenant précocément, dans les 6 premiers mois, aurait un impact plus délétère. Néanmoins les biopsies tardives C4d positives auraient aussi un pronostic péjoratif par le biais de facteurs non immunologiques : hypertension artérielle, dyslipémie, réduction néphronique, infection virale chronique, néphrotoxicité chronique. Toutes choses égales par ailleurs, en cas de dysfonction chronique, les greffons avec biopsies C4d positives ont un pronostic singulièrement plus mauvais que ceux avec biopsies C4d négatives.

## (2) Histopathologie

Idéalement la positivité du C4d implique la présence de dépôts linéaires le long de la membrane basale de plus de 50% des capillaires péri-tubulaires corticaux et médullaires, de façon intense.

Une biopsie typiquement négative montre des dépôts de C4d uniquement dans les glomérules.

Les dépôts de C4d obéissent à un processus dynamique. Ils peuvent apparaître ou disparaître en l'espace d'une semaine et nécessitent donc d'être recherchés à chaque biopsie.

On peut définir des critères standardisés de recherche des dépôts de C4d dans le transplant rénal : (55, 56)

1. Les dépôts de C4d devront être recherchés sur chaque biopsies à visée diagnostique.

2. Critères de positivité : dépôts diffus de C4d linéaires circonférentiels autour des capillaires péri-tubulaires dans le cortex ou dans la médullaire à l'exclusion des zones lésées ou nécrotiques.

Ils sont plus fréquents dans les deux mois qui suivent la transplantation. Ils peuvent être associés à différents aspects morphologiques, marqueurs indépendants du rejet humoral :

- Glomérulite
- Nécrose fibrinoïde
- Thrombose artérielle
- Accumulation massive de polynucléaires neutrophiles dans les glomérules et capillaires péri-tubulaires dilatés.

Compte tenu de l'association étroite entre la présence de dépôts C4d dans les capillaires péri-tubulaires en histologie, et la détection d'anticorps anti-donneur dans le sang, ces deux éléments sont majeurs pour le diagnostic de rejet humoral. On définit ainsi des critères diagnostiques du rejet humoral. (57). (cf tableau n°1).

Selon les auteurs de cet article, en microscopie optique, en cas de rejet humoral, les lésions de nécrose tubulaire aigue sont observées dans 10% des cas, les lésions de tubulite lymphocytaire dans 60% des cas, le pronostic étant alors moins favorable qu'en cas de rejet cellulaire pur.

### Critères diagnostiques du rejet humoral

1. Lésions tissulaires aiguës :nécrose tubulaire, PNN et cellules mononucléées dans les capillaires péri-tubulaires, glomérulite, thrombose capillaire, artérite intimale, nécrose fibrinoïde, inflammation artérielle intra-ou transmurale.
2. Dépôts de C4d et /ou d'immunoglobulines dans les capillaires péri-tubulaires, ou d'immunoglobulines et de complément dans la nécrose fibrinoïde artérielle.
3. Alloanticorps anti-donneur de type HLA ou non HLA

**Tableau n°1 : « ANTIBODY-MEDIATED REJECTION CRITERIA-AN ADDITION TO THE BANFF'97 OF RENAL ALLOGRAFT REJECTION » Racusen; in American journal of transplantation 2003. Conférence de 2001**

### *(3) Méthodes de détection*

Par le passé la détection du C4d était peu aisée car l'on avait recours à un anticorps anti-C4 réagissant avec le fragment C4c, mais peu avec le fragment C4d. actuellement celle-ci s'effectue grâce à des anticorps monoclonaux ou polyclonaux anti-C4d. Le recours à l'anticorps monoclonal nécessite que les coupes soient cryocongelées, tandis que l'anticorps polyclonal requiert qu'elles soient incluses dans la paraffine.

Bien que d'usage plus facile, la technique reposant sur l'application d'un anticorps polyclonal est discutée quant à sa sensibilité. En effet, après application de l'anticorps polyclonal, en cas de négativité du mésangium, le doute peut être émis si les capillaires péri-tubulaires apparaissent également négatifs. Dans une telle situation ils pourraient apparaître après application d'un anticorps monoclonal.

Une étude est en cours pour comparer les deux techniques : les résultats préliminaires seraient en faveur d'une moindre sensibilité de l'anticorps polyclonal.

illustration n°2: (cas nancéen) biopsie de greffon renal siège d'un rejet aigu humoral. Immunofluorescence sur coupes cryocongelées, marquage significatif des dépôts de C4d dans les capillaires péri-tubulaires et le long des membranes basales tubulaires par un anticorps monoclonal anti-C4d

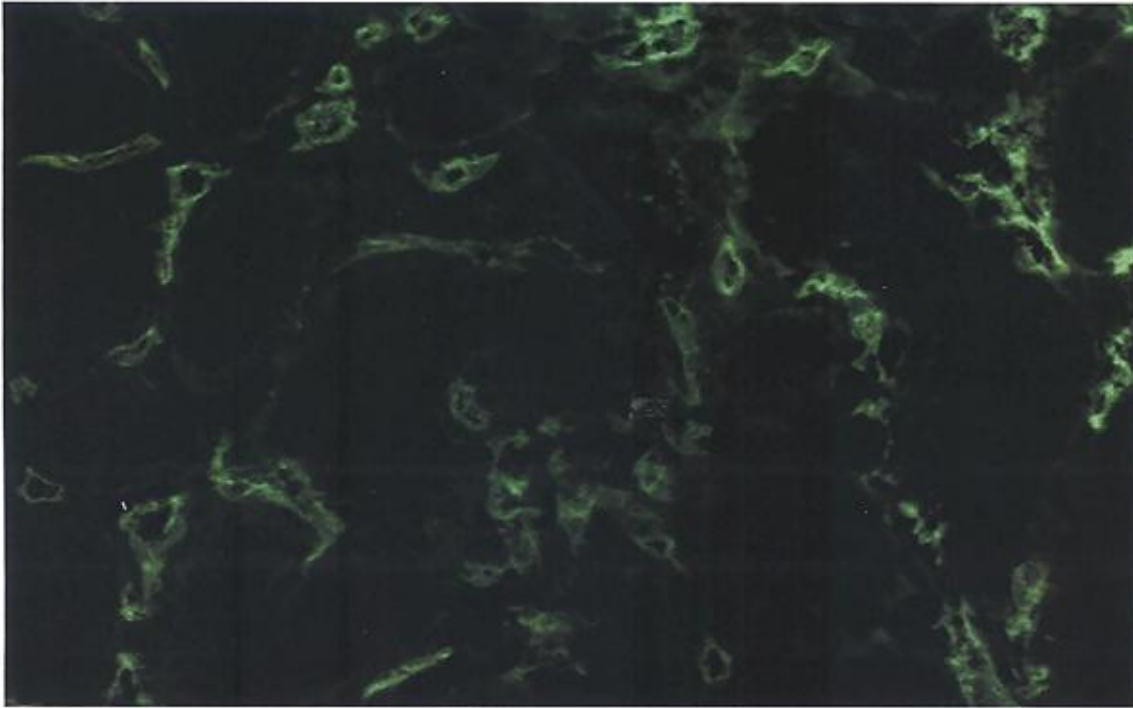
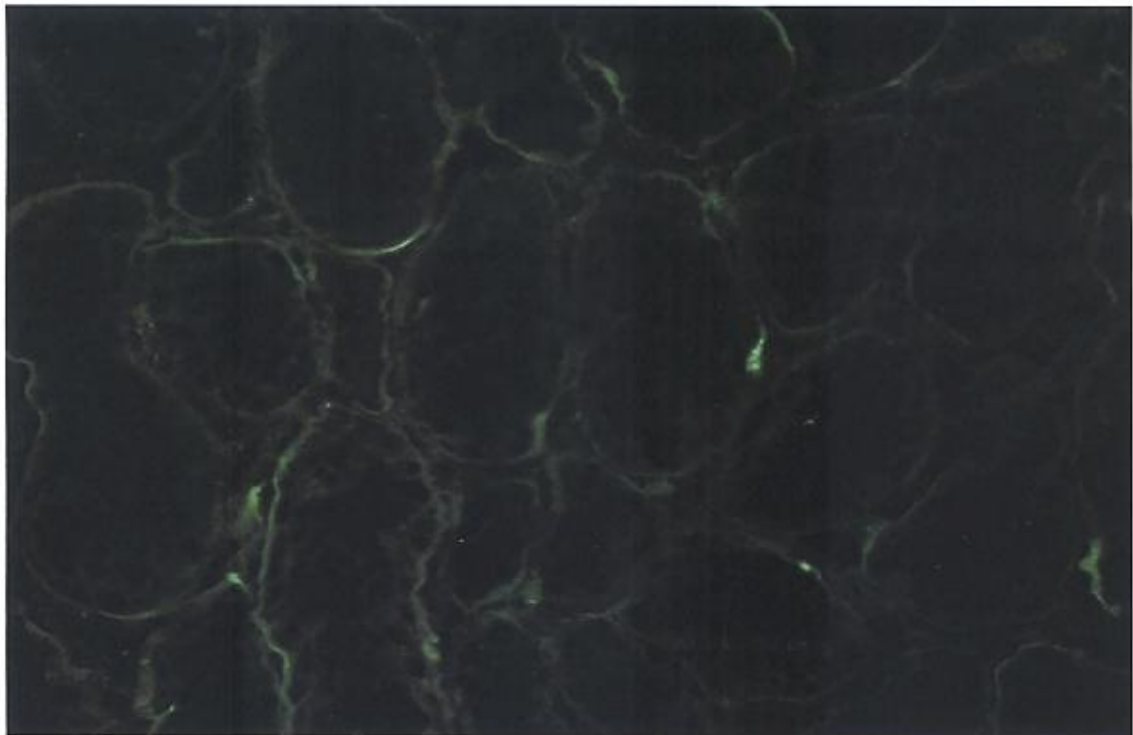


illustration n°3: (cas nancéen) biopsie de greffon rénal exempt de stigmate histologique de rejet aigu humoral ; marquage non significatif des dépôts de C4d exclusivement le long des membranes basales tubulaires par un anticorps monoclonal anti-C4d sur coupes cryocongelées





#### (4) *Génération des dépôts de C4d*

En post-greffe immédiat, les dépôts de C4d, sont la conséquence d'alloanticorps spécifiques anti-donneurs ayant échappé aux différentes techniques de crossmatch.

Dans le cas particuliers des patients hyperimmunisés, les anticorps préformés sont « trappés » dans le greffon et la production d'anticorps de novo peut ne pas survenir.

Par ailleurs, en l'absence de détection d'anticorps dans le sang circulant par les tests in vitro, leur accumulation in vivo dans le greffon peut permettre l'obtention d'une concentration suffisante à l'origine de la génération de dépôts de C4d.

##### (a) Relation alloanticorps anti-donneur et dépôts de C4d dans les capillaires péri-tubulaires

Comme évoqué plus haut, les dépôts de C4d dans les capillaires péri-tubulaires sont des marqueurs sensibles de l'action des alloanticorps sur l'endothélium du greffon. Il convient cependant de s'interroger sur leur spécificité. En effet, on sait qu'en transplantation cardiaque, des dépôts de C4d peuvent être induits par des lésions ischémiques. Concernant l'influence éventuelle du délai de reperfusion et donc de l'ischémie, sur les dépôts de C4d en transplantation rénale, on peut citer l'étude intéressante publiée par M. Haas en 2002 (45). Elle avait pour objet, l'étude d'une éventuelle présence de dépôts de C4d dans les capillaires péri-tubulaires du greffon rénal en avant implantation et une heure après reperfusion. Elle portait sur 35 greffons rénaux, de patients transplantés entre janvier 1998 et 2001, ainsi que sur les biopsies post-opératoires de 12 autres greffons. La durée moyenne d'ischémie de greffon à partir de donneurs cadavériques était de 26 heures.

Seules deux biopsies, prélevées une heure après reperfusion, seront positives. Il s'agissait de greffons provenant de donneurs vivants apparentés, avec crossmatch receveur/donneur positif en cytotoxicité et cytométrie de flux. Ces patients avaient en fait bénéficié d'une désensibilisation avant greffe par échanges plasmatiques et immunoglobulines intra-veineuses.

La biopsie postreperfusion d'un greffon provenant d'un donneur cadavérique avec crossmatch négatif en cytométrie de flux et par cytotoxicité, mais qui développera ultérieurement un rejet aigu humoral à J22 montrait une margination des PNN dans les capillaires péri-tubulaires et glomérulaires, des thrombi glomérulaires et artériolaires. Il est possible que ces modifications histologiques correspondent à un stade précoce du rejet aigu humoral, cependant, dans ce cas précis, ne disposant pas de biopsie avant implantation, les lésions ont été rattachées au donneur.

Contrairement aux dépôts dans les capillaires péri-tubulaires, les dépôts glomérulaires de C4d sont retrouvés dans 79 des biopsies périopératoires comportant des glomérules (les 3 dernières biopsies ne comportant que du tissu médullaire). Les dépôts glomérulaires sont linéaires le long des anses capillaires, mais aussi mésangiaux. En aucun cas, l'intensité des dépôts de mésangiaux ou le long des anses capillaires, ne différaient d'un indice supérieur à 0,5 entre les biopsies pré- et postreperfusion d'un même greffon. Il en allait de même pour les dépôts artériolaires et dans les capillaires péri-tubulaires.

L'auteur arrive donc à la conclusion que, contrairement à ce qui est observée en transplantation cardiaque, les dépôts de C4d dans les capillaires péri-tubulaires sont indépendants de la durée d'ischémie.

L'endothélium présente une certaine hétérogénéité d'expression des déterminants HLA. De plus tous les anticorps HLA détectés dans le sérum ne semble pas réagir avec l'endothélium du greffon *in vivo* : c'est le cas des anticorps dirigés contre les antigènes HLA DQ et DP, non exprimés de façon constitutive dans les capillaires mais seulement après stimulation par l'IFN gamma, tandis qu'HLA DR n'est a priori pas exprimé dans les artères mais est présent au niveau des capillaires. En revanche *in vitro*, les alloanticorps anti-HLA ont pour cible les antigènes de surface des lymphocytes.

(b) Dépôts de C4d dans le rejet d'allogreffe hépatique, cardiaque, ou pulmonaire. (58)

Le rejet à médiation humorale en greffe d'organes est de plus en plus reconnu grâce à l'amélioration des techniques immunopathologiques de détection du C4d, et à la mise en évidence d'anticorps anti-HLA du donneur dans le sang circulant. L'intérêt du C4d a également été mis en évidence en allogreffe de cœur, de poumon, ou de pancréas.

En transplantation cardiaque, comme évoqué précédemment, il est potentiellement la résultante d'une ischémie du greffon et pas exclusivement de l'alloimmunité humorale. La présence de dépôts de C4d ne sont ici qu'un argument immunohistochimique parmi d'autres pour le diagnostic de rejet humoral. D'autres marqueurs ont pu être proposés, tel qu'un marqueur macrophagique, CD68, en association avec d'autres marqueurs vasculaires (CD31 ou CD24).

En transplantation pulmonaire, les dépôts de C4d sont rarement observés, en dépit de la présence d'alloanticorps anti-donneurs.

En revanche le foie a généralement été considéré comme un organe « résistant » au rejet à médiation humorale y compris dans sa forme hyperaiguë. Le facteur de résistance supposé serait sa capacité ambivalente d'absorber alloanticorps et composés du complément d'une part et de produire des molécules HLA solubles d'autre part.

Schmeding (*AJT* juin 2006) (58) dans un article à ce sujet, prétend que les dépôts de C4d dans les greffons hépatiques permettrait de distinguer le rejet de la récurrence du virus de l'hépatite C (VHC), diagnostic différentiel habituellement peu aisé pour les pathologistes.

Dans son étude 68% des biopsies de greffons hépatiques avec histologie de rejet cellulaire avait des dépôts de C4d contre 12% en cas de récurrence du VHC et 7% pour les biopsies protocolaires ne présentant ni signes de rejet ni signe de récurrence virale.

Lors du rejet aigu d'allogreffe hépatique, on a ainsi pu montrer la présence de cellules B CD20 et de cellules plasmocytaires CD138 au sein de l'infiltrat, en association avec le C4d, dans les capillaires portaux.

Néanmoins, en transplantation hépatique des dépôts de C4d ont pu être observés chez 50% des patients avec rejet cellulaire, les dépôts étant situés au niveau des veines portales, des artères et des capillaires, associés à un infiltrat macrophagique.

Des études complémentaires sont cependant nécessaires pour établir des critères de consensus en matière de positivité des dépôts de C4d en transplantation hépatique.

Cependant, l'élément manquant important de toutes les études en la matière est l'absence de recherche d'anticorps anti-donneur. Certains pensent que le C4d serait un bien meilleur marqueur de rejet à médiation humorale que les anticorps anti-HLA car il permet d'éliminer deux sources de faux négatifs : l'adsorption des alloanticorps dans le greffon, et les

alloanticorps non anti-HLA.

De plus, les dépôts de C4d peut résulter de voie d'activation du complément ne dépendant pas des anticorps : protéine C réactive produite en grande quantité dans le foie, et voie des lectines (déclenchée par les microorganismes et les débris cellulaires). La recherche d'alloanticorps est donc déterminante.

En transplantation hépatique, les critères histologiques en faveur du rejet sont :

- Endothélite
- Inflammation portale avec afflux d'éosinophiles , de neutrophiles
- Lésions des canaux biliaires.

Les dépôts de C4d seraient donc un outil supplémentaire de diagnostic différentiel entre rejet et récurrence virale pour les pathologistes.

## ***F. Le rejet humoral : tolérance et désensibilisation***

Le nombre croissant de patients hyperimmunisés inscrits sur liste d'attente de greffe, à conduit certains auteurs à proposer de nouvelles pistes pour l'obtention d'une tolérance, notamment par le biais de protocoles de désensibilisation.

### **1. Induction d'un microchimérisme**

Une voie potentielle d'obtention d'une tolérance centrale des cellules B est l'induction d'un chimérisme complet ou mixte par une chimiothérapie myéloablatrice ou non myéloablatrice, lors d'une transplantation médullaire. Des patients porteurs d'hémopathie maligne, bénéficiant d'une transplantation médullaire puis d'une transplantation rénale provenant du même donneur, ne nécessite pas d'immunosuppression. Cependant, une telle intervention ne peut bien évidemment pas être proposée en pratique clinique courante en l'absence de véritables indications hématologiques.

Des stratégies ont pu être développées pour créer un état de chimérisme mixte dans lesquelles les cellules du donneur induisent une tolérance vis-à-vis du greffon et les leucocytes du receveur maintiennent une immunité compétente (11).

### **2. Protocoles de désensibilisation**

De tels protocoles ont été proposés par différentes équipes. Ils visent tous à réduire le taux d'alloanticorps circulants. Leur mise en œuvre est cependant fort complexe.

Ils reposent habituellement, sur l'association selon diverses modalités des immunoglobulines intra-veineuses, d'échanges plasmatiques et d'immunoabsorption. Toutes trois permettent, l'élimination et la neutralisation des anticorps pathogènes.

Les immunoglobulines intraveineuses, tout d'abord, elles sont obtenues à partir de pool de plasma provenant de donneurs sains, et comporte des IgG polyclonales complètes ainsi que des fragments Fab. Elles ont plusieurs mécanismes d'action :

- neutralisation des anticorps anti-HLA circulants par les interactions idiotypiques
- inhibition de la liaison au complément
- inhibition de la prolifération et la différenciation des cellules B et T

D'autres mécanismes, ont pu être évoqués (59) : elles pourraient lier les régions hypervariables des récepteurs des cellules T et inhiber le rejet médié par les cellules T, elles

auraient une activité anti-CD4, elles bloquent les récepteurs de cytokines ; enfin, in vitro, les IVIG diminuent l'activation des cellules B et T, et donc réduisent la production d'anticorps.

On peut ainsi citer l'expérience de l'hôpital du Cedar Sinai (60), lequel présentait en 2005 une série de 50 patients ayant bénéficié d'un protocole de désensibilisation par IVIG : l'incidence du rejet aigu était de 25%, la survie à 2 ans des greffons de 90%. Quatre greffons étaient perdus au décours d'un rejet. Le taux moyen de créatinine à 2ans était de 14mg/l.

Chez les patients hyperimmunisés, les immunoglobulines intraveineuses à forte posologie autorisent la transplantation notamment lorsqu'elles sont associées à une lourde immunosuppression d'entretien.

Plasmaphérèse et immunoadsorption enfin, permettent l'élimination, au moins transitoire, des alloanticorps et réduisent par ce biais le taux de PRA. Leur association avec des agents bloquants la synthèse des anticorps (tacrolimus et acide mycophénolique est de fait fort intéressante).

D'autres auteurs, (60), ont pu proposer, toujours avant greffe, le recours à des anticorps monoclonaux spécifiquement dirigés contre les lymphocytes B (anticorps anti-CD20), le cyclophosphamide voire la splénectomie.

De tels protocoles ont ainsi permis la réalisation, avec des succès variables selon les études, de transplantations HLA voire ABO-incompatibles.

Traitement curatif

La prise en charge thérapeutique des rejets humoraux repose sur les mêmes bases théoriques que les protocoles de désensibilisation avant greffe : élimination, et neutralisation des alloanticorps antidonneurs, blocage de leur production par inhibition de la prolifération des lymphocytes B.

Les mêmes traitement ont donc pu être proposés : plasmaphérèse, immunoadsorption (62), anticorps anti-CD20, mais aussi dans une certaine mesure les thymoglobulines, bien qu'elles ne ciblent pas exclusivement les lymphocytes B (63), avec des succès notables (64) en cas d'association, plus mitigés, notamment en cas d'utilisation des anticorps monoclonaux seuls. Ainsi, Y.T. Becker (65), observait chez certains patients, une évolution vers la néphropathie chronique du transplant en dépit d'une réponse initiale favorable, probablement du fait de l'action limitée de cette molécule sur les cellules B mémoires à longue durée de vie, diminuant leur expression membranaire de CD20.

## **II. TRANSPLANTATION RENALE A NANCY DU 1<sup>er</sup> DECEMBRE 2003 au 31 MAI 2005**

### ***A. Généralités concernant l'activité de transplantation rénale durant la période d'étude au sein du service de néphrologie du CHU de Nancy***

Du 1<sup>er</sup> décembre 2003 au 31 mai 2005, un total de 151 greffes rénales ont été réalisées au CHU de Nancy. On dénombre 133 transplantations rénales à partir de donneurs cadavériques, 13 transplantations rénales à partir de donneurs vivants apparentés (père, mère, frère, ou sœur) et 5 à partir de donneurs vivants non apparentés (entre conjoints).

Dans 19 cas, il s'agissait d'une « re-transplantation » (17 deuxièmes greffes et 2 troisièmes greffes); 4 patients étaient hyperimmunisés (taux de PRA>80%) avant greffe (transplantations antérieures ; antécédents de grossesses, de transfusion).

#### **1. Sélection des receveurs**

La majorité des receveurs étaient des patients porteurs d'insuffisance rénale chronique préterminale non dialysée ou terminale, traitée par hémodialyse ou dialyse péritonéale suivis dans les différents centres de dialyse (centres hospitaliers ou cliniques) de la région Lorraine (144 patients). Quelques patients étaient originaires de départements limitrophes : Haute-Marne (3 patients), Haut-Rhin (1 patient), ou plus éloignés : région parisienne (1 patient), Polynésie française (1 patient), mais aussi d'autres pays : Maroc (1 patient).

#### **2. Le bilan pré-greffe des receveurs**

Il comportait une évaluation générale cardio-vasculaire, urologique, virologique et immunologique, dont la détermination du groupe ABO, du typage HLA et du pourcentage de PRA : 78 patients et du groupe sanguin A, 56 du groupe sanguin O, 13 du groupe sanguin B, 4 du groupe sanguin AB.

#### **3. Sélection des greffons**

Les greffons provenaient de donneurs âgés en moyenne de 47,5 ans [15-73].

Les donneurs ont également fait l'objet d'un groupage ABO HLA A B DR, ainsi que d'une évaluation du status sérologique : virus des hépatites B et C, VIH, HTLV, cytomégalovirus et virus Ebstein-Bar.

#### **4. Critères d'allocations et agence de biomédecine**

En transplantation à partir de donneur cadavérique, durant la période étudiée, lors d'un appel de greffe, le médecin disposait d'une liste de receveurs potentiels classés par ordre croissant d'incompatibilités. Le choix final lui était toutefois laissé, décision dans laquelle intervenait d'autres facteurs tels que l'âge du donneur, l'ancienneté d'inscription sur la liste d'attente de greffe.

En transplantation à partir de donneur vivant, le donneur fait l'objet d'explorations rénales fonctionnelles afin d'estimer sa fonction rénale après néphrectomie, mais aussi morphologiques et immunologiques ; son crossmatch vis-à-vis du receveur devant être négatif en microlymphocytotoxicité et ELISA.

## 5. Technique chirurgicale :

Les greffons sont implantés en position hétérotopique en fosse iliaque droite ou gauche.

La ou les artères du greffon, sont anastomosée sur l'artère iliaque externe du receveur, de même pour le pédicule veineux sur la veine iliaque externe. L'uretère du greffon est anastomosé à la vessie du receveur selon les techniques de Woodruff ou de Liech-Grégoire.

Durant la période étudiée, la durée d'ischémie froide était en moyenne de 18,3 heures [2,5-42,28]. Notons que le patient, dont la durée d'ischémie froide du greffon dépassait 42 heures présente actuellement une fonction normale.

## 6. Aspects immunologiques

Les patients inscrits sur liste d'attente de transplantation rénale font l'objet d'une recherche d'anticorps anti-HLA tous les 3 mois, et plus fréquemment en cas d'évènements considérés comme potentiellement immunisants : grossesse, transfusions, transplantectomie.

La technique de crossmatch utilisée en pratique courante au moment de la greffe est celle faisant appel à la cytotoxicité dépendante du complément ou CDC crossmatch. Celle-ci est effectuée sur le sérum actuel (prélevé juste avant greffe) ainsi que sur les sérums historiques, prélevés pour l'évaluation régulière du PRA ou lors d'appels précédents..

Dans la population étudiée ici, au moment de la transplantation, les crossmatch B et T étaient négatifs en microlymphocytotoxicité, à l'exception d'un patient qui avait un crossmatch B positif : notons que ce patient ne développera pas de rejet en post-greffe immédiat.

Les compatibilités dans le système ABO étaient toujours respectées ; en revanche le nombre total d'incompatibilités HLA A B DR variait de 0 à 6.

Tableau n°2 : répartition des incompatibilités dans les différents couples receveurs/greffons.

Nombre total d'incompatibilités	Nombre de patients
0	8
1 à 5	138
6	5

## 7. Aspects thérapeutiques : stratégies d'immunosuppression

L'immunosuppression comprenait une phase d'entretien précédée ou non d'une induction.

### a) Indication de traitement d'induction :

Elle concerne les patients à haut risque immunologique :

- immunisation anti-HLA,
- transplantations antérieures,
- transplantation combinée rein-pancréas,
- patient jeune.

**Les traitements utilisés lors de l'induction sont les suivants :**

→ **Corticoïdes** : bolus de solumédrol en intraveineux sur 2 jours, puis relais par une corticothérapie orale à doses dégressives par palier de 5mg tous les 15 jours. La posologie habituelle de 5mg par jour étant normalement atteinte au bout de 5 semaines.

→ **Les anticorps polyclonaux anti-lymphocytes humains (thymoglobulines)** : 1,25mg/kg/j dès J0, l'objectif étant d'obtenir un pourcentage de lymphocytes T CD3 < 5% sur les dosages quotidiens des sous-populations lymphocytaires.

→ **Les anticorps antirécepteurs de l'IL2** : daclizumab 1mg/kg à J0-J14-J28-J42 et J56 ou basilixumab 20mg en IV à J0 et J4.

**b) Immunosuppression d'entretien**

Le plus souvent le traitement initial est une trithérapie associant corticoïdes, acide mycophénolique, et un inhibiteur de la calcineurine : ciclosporine ou tacrolimus, l'un des trois pouvant être interrompus ou réduits à distance de la greffe, dans le but de prévenir les complications infectieuses et carcinologiques de l'immunosuppression au long cours.

Dans certaines situations bien spécifiques, on eut recours au sirolimus, notamment en cas d'antécédents personnels de néoplasie, ou d'infection concomittante par le virus de l'hépatite B.

Les différents protocoles en cours dans le service durant la période étudiée, sont les suivants :

- TAXI : Evaluation des stratégies d'induction par thymoglobulines ou daclizumab ; par ailleurs, le tacrolimus était associé à l'acide mycophénolique à la posologie de 2g/jour (patients immunisés),
- SENIOR : Evaluation de l'efficacité d'une association du tacrolimus et de l'acide mycophénolique lors d'un arrêt rapide de la corticothérapie,
- MR4 : Evaluation de l'efficacité d'une présentation du tacrolimus à libération prolongée.
- FTY720 : Protocole interrompu en raison de la fréquence d'effets indésirables (œdème maculaire) en transplantation rénale; les patients ayant été mis sous ciclosporine. Notons que le développement de cette molécule a été poursuivi dans la stratégie de prise en charge de la sclérose.
- FDCC : Evaluation de l'efficacité d'une posologie de mycophénolate mofetil adaptée à la concentration plasmatique par rapport à la posologie usuelle.

En pratique, entre le 1<sup>er</sup> décembre 2003 et le 31 mai 2005 :

- 83 patients étaient sous ciclosporine, 62 patients étaient sous cyclosporine,
- 1 patient était sous mycophénolate sodique ; les autres étant traités par mycophénolate mofetil
- 1 était sous sirolimus au lieu de l'acide mycophénolique.
- 62 patients avaient reçu un traitement d'induction.
- 29 patients étaient inclus dans un protocole

Tableau n°3: Protocoles en cours dans le service:

<b>Protocole</b>	<b>Nombre de patients inclus</b>
<b>TAXI</b>	4
<b>SENIOR</b>	7
<b>MR4</b>	6
<b>FTY720</b>	6
<b>FDCC</b>	6

c) Traitement des épisodes de rejet aigu, en fonction du grade selon la classification de Banff

- Rejets aigus de grade 1 : traitements par injections intra-veineuses (bolus) de méthylprednisolone sur 5 jours, relayés par une corticothérapie orale initialement à 1mg/kg/j rapidement dégressive,
- Rejets aigus de grade 2 : traitement par injections intraveineuses de thymoglobulines sur 7 jours en continue, sous étroite surveillance des sous-populations lymphocytaires T CD3. En vue d'un traitement optimal du rejet, celles-ci devaient être inférieures à 5%.

**d) Evolution immédiate en post-greffe**

*(1) Reprise différée de la fonction du greffon*

Les délais de reprise de la fonction du greffon étaient de 0 à 44 jours, en moyenne 6,7 jours, si l'on exclue deux cas de dysfonction primaire et les deux transplantectomies à J0 pour cause de complications thrombotiques.

*(2) Complications immunologiques*

Les épisodes de rejets aigus étaient suspectés devant une absence de reprise de la fonction du greffon, une chute de la diurèse, une baisse de la natriurèse, une stagnation des chiffres de créatinémie ou leur réascension après avoir éliminé toutes autres causes de dysfonction du greffon (causes vasculaires, urologiques, toxicité des inhibiteurs de la calcineurine).

Les rejets étaient ensuite, le plus souvent confirmés en histologie par la réalisation d'une ponction biopsie du greffon par voie percutanée.

Les critères de validité des prélèvements histologiques sont décrits en annexe 1.

Les fragments biopsiés étaient analysés en microscopie optique, et congelés pour analyse en immunofluorescence.

L'immunofluorescence est effectuée notamment pour la recherche de dépôts significatifs de C4d dans les capillaires péri-tubulaires. Notons que l'anticorps monoclonal anti-C4d est disponible à Nancy depuis février 2004. Il fut néanmoins utilisé de façon rétrospective sur des biopsies de greffons réalisées en décembre 2003.

**8. Les rejets aigus précoces et tardifs**

Durant la période d'étude, 103 épisodes de rejets ont été diagnostiqués, ils concernaient 69 patients. Dans 92 cas, il s'agissait de rejets histologiquement prouvés. Le grade des rejets était déterminé selon la classification de Banff. On dénombrait :



- 77 rejets de grade 1
- 15 rejets de grade 2

Les patients avaient eu 1 à 4 épisodes de rejet.

Tableau n°4 : Nombre d'épisodes de rejets par patients (selon la classification de Banff)

<b>Episodes de rejets aigus</b>	<b>Nombre de patients</b>
1	77
2	18
3	6
4	2

Le délai moyen de survenue du rejet par rapport à la date de la greffe était de 107,6 jours [6-687 jours]; on distinguait 34 rejets aigus tardifs (au-delà du 90<sup>ème</sup> jour) et donc 99 épisodes de rejets aigus précoces.

Sur les 92 épisodes de rejets histologiquement prouvés, 63 (68,5%) feront l'objet d'une recherche en immunofluorescence, sur coupes cryocongelées, de dépôts significatifs de C4d dans les capillaires péri-tubulaires.

Sept patients, transplantés au cours de la période étudiée, présenteront de tels dépôts sur une biopsie.

Selon la classification de Banff, les aspects histologiques retrouvés, en microscopie optique, étaient les suivants:

Tableau n°5 : épisodes de rejets aigus avec dépôts significatifs de C4d dans les capillaires péri-tubulaires

	<b>Histologie en microscopie optique</b>
<b>patient 1</b>	1b
<b>patient 2</b>	2b
<b>patient 3</b>	1a
<b>patient 4</b>	1b
<b>patient 5</b>	2a
<b>patient 6</b>	2a
<b>patient 7</b>	2a et GA*

Légende : GA\* ou glomérulopathie d'allogreffe

Durant cette même période, 46 autres biopsies de greffon ont été effectuées, toujours pour suspicion de rejet ; mais non confirmés en histologie. En microscopie optique, les lésions retrouvées étaient les suivantes :

→ Lésions de nécrose tubulaire aigue sur 17 prélèvements,

- Toxicité des inhibiteurs de la calcineurine sur 17 prélèvements avec présence concomitante de nécrose tubulaire aigue sur 5 biopsies,
  - Lésions de rejet borderline (tubulite lymphocytaire inférieure à 4 lymphocytes par sections tubulaires) sur 12 prélèvements.
  - Récidive de la néphropathie initiale dans trois cas, dans un quatrième on observait des dépôts mésangiaux IgA sans qu'il ne s'agisse de la néphropathie initiale du receveur. ( lésions imputables au donneur ?) ;
  - Deux cas d'ischémie glomérulaire
  - Un cas de CIVD
  - Un cas de maladie sérique
  - La biopsie était non contributive dans trois cas ;
  - Lésions non spécifiques sur 4 biopsies ;
  - Biopsie considérée comme normale dans un cas ;
- Les dépôts de C4d dans les capillaires péri-tubulaires avaient néanmoins été recherchés sur 25 de ces biopsies, et étaient toujours négatifs.

### **9. Suivi des anticorps anti-HLA**

Les recherches d'anticorps anti-HLA étaient le plus souvent effectuées au cours d'un suivi systématique.

41 patients ont bénéficié d'une recherche d'anticorps anti-HLA concomitante à la réalisation de leur biopsie de greffon, soit 56% des patients ayant développé un ou plusieurs épisodes de rejet confirmés en histologie.

## ***B. Descriptifs des patients ayant présenté des dépôts significatifs de C4d dans les capillaires péricapillaires***

Il s'agissait de 7 patients, âgés en moyenne de 52,7 ans [35-75] au moment de la transplantation. Il s'agissait dans tous les cas d'une première greffe, à partir de donneur cadavérique pour six d'entre eux, de donneur vivant apparenté pour le patient n°3.

Les données relatives aux couples « greffons/receveurs » sont récapitulés dans le tableau n°2.

Au sein de ce sous-groupe de patients, l'âge moyen donneurs était de 40,6 ans [33-70]. Enfin, la durée moyenne d'ischémie froide était de 18,2 heures ; le délai moyen de reprise de la fonction du greffon était de 8,7 jours, si l'on exclue un cas de dysfonction primaire (patient n°6)

	<b>Néphropathie initiale</b>	<b>âge au moment de la greffe (ans)</b>	<b>N°de greffe</b>	<b>Type de greffe</b>	<b>Nb incompatib</b>	<b>âge du Donneur (ans)</b>	<b>Durée d'ischémie froide (heures)</b>	<b>Délai de reprise de la fonction du greffon (jours)</b>
<b>patient 1</b>	néphropathie non étiquetée	54	1	cadavérique	5	56	29,3	28
<b>patient 2</b>	Glomérulonéphrite extra-capillaire	48	1	cadavérique	2	61	17	/
<b>patient 3</b>	Glomérulonéphrite membranoproliférative post-virale	35	1	Vivant apparenté	3	38	2,5	0
<b>patient 4</b>	Dysplasie rénale avec reflux bilatéral	53	1	cadavérique	4	59	27	2
<b>patient 5</b>	Polykystose hépato- rénale	40	1	cadavérique	4	33	23,9	0
<b>patient 6</b>	Non étiquetée	64	1	cadavérique	4	52	11	2
<b>patient 7</b>	Non étiquetée	75	1	cadavérique	6	70	16,5	8

Tableau n°6 : Descriptif des patients C4d positifs : aspects cliniques

Deux patients ont bénéficié d'un traitement d'induction par daclizumab, un autre par thymoglobulines. Trois patients n'ont pas eu d'induction.

L'immunosuppression d'entretien consistait habituellement en une trithérapie associant un inhibiteur de la calcineurine, de l'acide mycophénolique et des corticoïdes. Dans un cas l'acide mycophénolique fut substitué par du sirolimus (cf : tableau n°7)

**Tableau n°7 :Patients C4d positifs, protocoles d'immunosuppression**

	<b>Immunosuppression</b>	
	<b>induction</b>	<b>entretien</b>
<b>patient 1</b>	daclizumab	cyclosporine/ acide mycophénolique/ prednisone
<b>patient 2</b>	non	cyclosporine/ prednisone/ FTY (protocole FTY720)
<b>patient 3</b>	non	Tacrolimus/sirolimus/prednisone
<b>patient 4</b>	daclizumab	cyclosporine/ prednisone/ FTY (protocole FTY720)
<b>patient 5</b>	non	cyclosporine/prednisone
<b>patient 6</b>	daclizumab	cyclosporine/ prednisone/acide mycophénolique
<b>patient 7</b>	thymoglobulines	tacrolimus/ prednisone/ acide mycophénolique

Ces sept patients développèrent 1 à 3 épisodes de rejets d'allogreffe, tous prouvés par biopsie.

En microscopie optique, les lésions retrouvées étaient de stade 1a à 2b.

Les rejets de stades 1 étaient traités par bolus de solumédrol, ceux de grade 2 par thymoglobulines ou OKT3. Le patient n°7 ne sera traité ni par thymoglobulines ni par OKT3, en raison de son âge.

En cas de prélèvements histologiques ultérieurs, les dépôts de C4d dans les capillaires péritubulaires ne seront pas retrouvés en immunofluorescence. (cf : tableau n°8)

Tous à l'exception du patient n°7, ont bénéficié d'une recherche d'alloanticorps anti-HLA à l'occasion de l'épisode de rejet, C4d positif. Néanmoins, ce même patient n°7, comme nous le verrons ultérieurement, avait déjà développé un anticorps dirigé contre son greffon, 7 mois auparavant. (cf : tableau n°11)

**Tableau n°8 : Les différents épisodes de rejet**

	<b>biopsie n°</b>	<b>histologie</b>	<b>traitement</b>
<b>patient 1</b>	1*	1a	bolus de corticoïdes
	1	0	/
<b>patient 2</b>	2*	2b	OKT3
	3	2b	bolus decorticoïdes
<b>patient 3</b>	1*	1a	bolus de corticoïdes
<b>patient 4</b>	1	1b	bolus de corticoïdes
	2*	1b	bolus de corticoïdes
<b>patient 5</b>	1*	2a	<i>thymoglobulines</i>
<b>patient 6</b>	1*	2a	<i>thymoglobulines</i>
	1	1a	bolus de corticoïdes
<b>patient 7</b>	2	2a	<i>bolus de corticoïdes</i>
	3*	2a	bolus de corticoïdes

Légende : \*= biopsie positives pour les dépôts de C4d dans les capillaires péri-tubulaires  
0 : absence de lésions de rejet sur la biopsie

**Tableau n°9: Episodes de rejets avec histologie positives pour les dépôts de C4d dans les capillaires péri-tubulaires**

	<b>Histologie en microscopie optique</b>	<b>Dépôts de C4d</b>	<b>Cinétique des dépôts de C4d</b>	<b>anticorps anti-HLA prélevés simultanément</b>	<b>anticorps anti-HLA positifs/négatifs</b>
<b>patient 1</b>	1b	oui	pas de prélèvement ultérieur	oui	positif
<b>patient 2</b>	2b	oui	pas de recherche en immunofluorescence sur la trapiantect.	oui	positif anti A2 connu
<b>patient 3</b>	1a	oui	Pas d'autre prélèvement	oui	négatif
<b>patient 4</b>	1b	oui	Disparition sur la pièce de transplantectomie	oui	positif anti-DQ4
<b>patient 5</b>	2a	oui	Pas d'autre prélèvement	oui	négatif
<b>patient 6</b>	2a	oui	Pas d'autre prélèvement	oui	négatif
<b>patient 7</b>	2a et CAN	oui	Pas d'autre prélèvement	non	/

Dans le but de mettre en évidence d'autres stigmates de rejet humoral sur l'ensemble des biopsies C4d positives ou non de ces six patients, nous avons effectué une relecture rétrospective des lames en question.

Les résultats sont résumés dans le tableau n°10.

Nous étions donc à la recherche des critères morphologiques de rejet humoral tels qu'ils avaient été décrits dans la classification de Banff modifiée, à savoir :

- Glomérulite à polynucléaires neutrophiles,
- Dilatation des capillaires péri-tubulaires avec engorgement de ceux-ci par des polynucléaires neutrophiles,
- Thrombi intracapillaires,
- Nécrose fibrinoïde pariétale artériolaire.

Notons que la glomérulite lymphocytaire, la dilatation des capillaires péri-tubulaires seule éventuellement associée à un engorgement par des lymphocytes ne sont pas des signes peu spécifiques de rejet humoral.

D'une façon générale les stigmates morphologiques de rejet humoral étaient discrets.

La patiente n°1 ne présentait aucun stigmate morphologique de rejet humoral

Pour la patiente n°2, ils pouvaient éventuellement être suspectés en présence des lésions de nécrose tubulaire aiguë de la première biopsie, C4d négative. La seconde et la troisième biopsie retrouvait en revanche des stigmates patents et persistants d'implication de l'allo-immunité humorale : nécrose fibrinoïde pariétale, intéressant une artériole, persistance d'une dilatation des capillaires péri-tubulaires avec cependant, un engorgement par des lymphocytes.

Les patients n°3 et 6 n'ont eu à ce jour qu'un seul prélèvement biopsique chacun, lesquels ne retrouvaient que peu de signes histologiques de rejet humoral, à savoir de rares capillaires péri-tubulaires dilatés.

Le patient n°4, pour qui, le diagnostic de rejet médié par les anticorps fut suspecté sur la seconde biopsie, devant la présence de dépôts de C4d, ne présentait sur la première qu'une discrète glomérulite mixte, à polynucléaires neutrophiles et lymphocytes ainsi que des capillaires péri-tubulaires assez dilatés, gorgés de cellules mononucléées. Ces deux types de lésions étant aggravées sur la 2<sup>ème</sup> biopsie avec en sus des lésions de néphropathie chronique du transplant (fibrose interstitielle et épaississement mésangial).

La patiente n°5, également ne dispose à ce jour que d'un seul prélèvement biopsique. Outre le fait qu'il soit C4d positif en immunofluorescence, il présentait des stigmates de l'allo-immunité humorale à savoir : des microthrombi dans la lumière des capillaires d'un glomérule, présence de capillaires péri-tubulaires dilatés avec afflux de polynucléaires neutrophiles.

Enfin le patient n°7, avait également peu d'arguments morphologiques pour un rejet humoral : quelques foyers de nécrose tubulaire aiguë, sur la première biopsie, des capillaires péri-tubulaires dilatés sur la seconde, un engorgement de ces mêmes capillaires par des polynucléaires neutrophiles.





**Tableau n°10 :Relecture des biopsies, histologie en microscopie optique des rejets C4d positifs**

	Biopsie n°	Glomérulite à PNN	Glomérulite lymphocytaire	Dilatation des CPT	Afflux des PNN dans CPT	Afflux de LC dans CPT	Thrombi intracapillaires	Nécrose fibrinoïde pariétale	Endothélite	Tubulite lymphocytaire	Nécrose tubulaire aigue
patient 1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2*	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
patient 2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	2*	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-
	3	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+
patient 3	1*	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
	1	+	-	+	-	+	-	-	-	++	-
patient 4	2*	-	++	+	-	-	-	-	-	-	+
patient 5	1	-	-	+	+	-	+ (1cap-glo)	-	+	-	-
patient 6	1	-	-	+++	+	+	-	-	+	-	+
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
	3	-	+	++	-	++	-	-	+(artère)	++	-
patient 7	4	-	+	+	+	+	-	-	+(artère)	-	-

Nous nous sommes ensuite intéressés à l'aspect sérologique de ces rejets C4d positifs. (cf : tableau n°11)

	Immunisation avant greffe		Immunisation après greffe	
	ELISA	LCT	ELISA	LCT
<b>Patient 1</b>	/	PRA 0%	/	Anti-classe I et anti-classe II
<b>Patient 2</b>	/	PRA 38% ; anti-A2	Anti-classe I positif	Anti-A2
<b>Patient 3</b>	/	PRA 21%;réactivité IgM classe II	/	réactivité IgM classe II
<b>Patient 4</b>	/	PRA 90% ; réactivité IgM classe II	IgG anti-DQ4, (juillet 2005)	réactivité IgM classe II
<b>Patient 5</b>	/	PRA 45% ; réactivité IgM classe II	/	réactivité IgM classe II
<b>Patient 6</b>	/	/	Anti-classe I positif, transitoire	Immunisation anti-greffon (DQ2) en 2004, négative en 2005
<b>Patient 7</b>	/	PRA 100%, réactivité anti-classe II	Positif en ELISA de classe 2 depuis mai 2006 : suspicion d'anti-DQ6 contre le greffon	/

**Tableau n°11 : patients C4d positifs, immunisation avant et après greffe,**

On note que deux patientes n'étaient pas immunisées avant greffe (patiente n°1 et 6). Les autres patients n'avaient une immunisation détectable qu'en microlymphocytotoxicité.

Après transplantation, seuls les patients n° 4, 6 et 7 avaient positivé leurs tests en ELISA, et développé des anticorps dirigés contre leurs greffons détectés en périphérie, respectivement 16 et 7 mois avant le retour en hémodialyse des patients 4 et 7.

En terme d'évolution, parmi les 7 patients ayant présenté des dépôts de C4d significatifs en immunofluorescence sur une des biopsies de leur greffon, trois ont donc développé un anticorps anti-greffon détectable par les techniques classiques (patients n°4, 6 et 7), trois sont retournés en dialyse dans les deux ans qui suivirent leur transplantation (patients n°2, 6, et 7).

Parmi les patients ayant développé un anticorps spécifique anti-donneurs, seule une dispose à ce jour d'un greffon fonctionnel, avec toutefois une valeur de clairance peu satisfaisante.

Deux des 3 patients, retournés en dialyse, (patients n°2 et 4) ont nécessité une transplantectomie, dans un cas en raison d'un lymphome développé sur le greffon (patiente 2), elle est d'ailleurs décédée peu après son retour en dialyse probablement des suites d'un trouble du rythme sur hyperkaliémie. Dans le second cas, la survenue d'un rejet aigu terminal sur le greffon avait motivé le retour en dialyse.

Parmi les quatre patients disposant donc toujours d'un greffon fonctionnel, seul un, garde une clairance de la créatinine supérieure à 60ml/mn.

**Tableau n°12 :Evolution des rejets C4d positifs**

	<b>Clairance à 1 an (ml/mn)</b>	<b>Clairance à 2 ans</b>	<b>Protéinurie des 24 heures (g/24h)</b>	<b>Evolution</b>
<b>Patient 1</b>	43,4	34,0	0,22	Insuffisance rénale chronique stade 2
<b>Patient 2</b>	/	/	/	Dysfonction primaire, lymphome du greffon, transplantectomie, puis décès de la patiente
<b>Patient 3</b>	82,0	69,8	0,2	Insuffisance rénale chronique stade 1
<b>Patient 4</b>	69,9	/	0,22	Glomérulopathie d'allogreffe, retour en dialyse et transplantectomie sur rejet aigu terminal à 2 ans
<b>Patient 5</b>	38,6	37,9	0,35	Insuffisance rénale chronique stade 2
<b>Patient 6</b>	59,9	37,08	0,22	Insuffisance rénale chronique stade 2
<b>Patient 7</b>	67,2	/	0,48	Retour en hémodialyse à 18 mois

**Tableau n°13 : Synthèse : groupe des patients avec rejets C4d positifs**

	<b>Grade du rejet</b>	<b>Thrombi intracapillaire ou nécrose fibrinoïde</b>	<b>Anticorps anti-HLA</b>	<b>Traitement du rejet</b>	<b>Evolution clinique</b>
<b>Patient 1</b>	1b	/	Anti-classe I et anti-classe II	Bolus de solumédrol	Stade 2
<b>Patient 2</b>	2b	Thrombi intracapillaire et nécrose fibrinoïde	Anti-A2 en LCT, anti-classe I positif en ELISA	OKT3	Dysfonction primaire, lymphome du greffon, transplantectomie, puis décès de la patiente
<b>Patient 3</b>	1a	/	réactivité IgM classe II	Bolus de solumédrol	Stade 1
<b>Patient 4</b>	1b	/	IgG anti-DQ4, (juillet 2005)	Bolus de solumédrol	Glomérulopathie d'allogreffe, retour en dialyse et transplantectomie sur rejet aigu terminal à 2 ans
<b>Patient 5</b>	2a	Thrombi intracapillaire	réactivité IgM classe II	Thymoglobulines	Stade 2
<b>Patient 6</b>	2a	/	Immunisation anti-greffon (DQ2) en 2004, négativé en 2005 Anti-classe I positif, transitoire en post-greffe	Thymoglobulines	Stade 2
<b>Patient 7</b>	2a et CAN	/	Positif en ELISA de classe 2 depuis mai 2006 : suspicion d'anti-DQ6 contre le greffon	Bolus de solumédrol	Retour en hémodialyse à 18 mois de greffe

Ainsi sur les 92 épisodes de rejet histologiquement prouvés, concernant les patients ayant bénéficié d'une transplantation rénale entre le 1<sup>er</sup> décembre 2003 et le 31 mai 2005, 7 (7,6%) présentaient en immunofluorescence des dépôts significatifs de C4d dans les capillaires péri-tubulaires. En microscopie optique, ils présentaient le plus souvent de façon discrète, des lésions histologiques compatibles avec un rejet humoral. Enfin en sérologie, 4 présentaient des anticorps anti-HLA par microlymphocytotoxicité, et 3 un alloanticorps spécifiquement dirigé contre un antigène du greffon

Il s'agissait donc, dans les 7 cas, de rejets humoraux aigus ou chroniques probables voire certains, du fait de la présence d'au moins 2 des 3 critères requis.

Nous sommes donc bien en deçà de la proportion habituellement reconnue de rejet humoral à savoir 20 à 30% de la totalité des rejets. Nous nous sommes donc intéressés aux patients de cette même période d'étude, ayant d'une part développé un ou plusieurs épisodes de rejets, et d'autre part s'étant immunisés de façon significative et ayant développé une immunisation significative en ELISA ou en microlymphocytotoxicité.

De la même façon que pour les patients C4d positifs, nous avons procédé à une relecture en anatomo-pathologie des biopsies de ces patients à la recherche de stigmates morphologiques de rejet humoral ; l'objectif étant de définir un sous-groupe de patients présentant une conjonction d'arguments cliniques, histologiques (autres que les dépôts de C4d dans les capillaires péri-tubulaires), et immunologiques permettant de suspecter la possibilité de survenue d'un rejet médié par les anticorps aigu ou chronique.

Les patients concernés étaient au nombre de 12, pour ceux ayant développé une immunisation significative en ELISA et au nombre de 17 pour ceux ayant développé une immunisation significative en microlymphocytotoxicité. Notons ici, comme pour les patients C4d positifs, qu'il ne s'agissait pas systématiquement d'un anticorps dirigé contre le greffon.

Parmi les 12 patients positifs en ELISA, 2 patients étaient donc positifs en histologie pour le C4d ; nous avons traités leurs cas plus haut. Nous envisagerons les cas des dix autres patients ci-dessous.

### ***C. Patients ayant développé une immunisation significative dans le système HLA en pré et surtout post-greffe par la technique de détection ELISA.***

Durant la période étudiée, 10 patients ont développé de façon significative des anticorps anti-HLA détectés par la technique ELISA, en l'absence de dépôts significatifs de C4d dans les capillaires périrubulaires. Il s'agissait de 5 hommes et de 6 femmes, qui au moment de la greffe étaient âgés en moyenne 47.9 ans [39-72].

Pour 4 d'entre eux il s'agissait d'une seconde transplantation (patients n°9, 11, 12 et 15). Ils étaient donc, immunisés dans le système HLA :

- Deux d'entre eux étaient hyperimmunisés avec un taux de PRA supérieur à 80% (patient n°11 et 15)
- Les deux suivants étaient immunisés mais avec un taux de PRA inférieur à 80%, en microlymphocytotoxicité seule pour l'un (patient n°9) en microlymphocytotoxicité et ELISA pour l'autre avec notamment pour ce dernier patient (patient n°12) la présence d'un anticorps dirigé contre un antigène de son premier greffon.

Parmi les 6 patients dont il s'agissait de la première greffe, 5 étaient strictement négatifs en terme d'immunisation HLA avant transplantation. (Patients n°8, 10, 13, 14, et 17). La dernière patiente (n°16) était hyperimmunisée : taux de PRA>80% en pré-transplantation en raison d'antécédents de transfusions itératives rendues nécessaires par une bêta-thalassémie.

Au plan thérapeutique, 5 de ces patients ont reçu un traitement d'induction par thymoglobulines, (patients n°8, 11 et 16) ou daclizumab (patients n°14 et 15).

En terme d'immunosuppression d'entretien, tous furent traités par une trithérapie classique associant un inhibiteur de la calcineurine, un corticostéroïde et du mycophénolate mofetil. Concernant le choix de l'inhibiteur de la calcineurine, la préférence allait en général vers le tacrolimus en cas de retransplantation et/ou chez les sujets hyperimmunisés (cf : tableau n°14)

Concernant les greffons, ils provenaient de donneurs âgés en moyenne 54,8 ans. Ils s'agissaient dans 9 cas de greffons provenant d'un donneur vivant cadavérique et dans un cas, d'un donneur vivant non apparenté (entre époux).

Les durées d'ischémie froide étaient en moyenne 20,8 heures.

L'ensemble de ces données ainsi que les incompatibilités HLA totales et DR sont rappelées dans les tableaux ci-dessous n°14 et 15.

nom	Age lors de la greffe (ans)	néphropathie initiale	n° de greffe	induction	immunosuppression d'entretien
Patient n°8	39	onycho-ostéo-dystrophie	1	thymoglobulines	ciclosporine/prednisone/acide mycophénolique
Patient n°9	52	glomérulopathie associée au déficit en LCAT	2	non	tacrolimus/prednisone/acide mycophénolique
Patient n°10	59	non étiquetée	1	non	tacrolimus/acide mycophénolique/cortancyl
Patient n° 11	45	sténose de l'urèthre postérieure	2	thymoglobulines	tacrolimus/prednisone/acide mycophénolique
Patient n°12	64	polykystose hépato-rénale	2	non	tacrolimus/acide mycophénolique /prednisone
Patient n°13	65	maladie kystique hépato-rénale	1	non	ciclosporine/prednisone/acide mycophénolique
Patient n°14	72	néphroangiosclérose	1	daclizumab	ciclosporine/prednisone/acide mycophénolique
Patient n°15	53	polykystose hépato-rénale	2	daclizumab	tacrolimus/prednisone/acide mycophénolique
Patient n°16	46	non étiquetée	1	thymoglobulines	tacrolimus/prednisone/acide mycophénolique
Patient n°17	53	non étiquetée	1	non	tacrolimus/MMF/acide mycophénolique

**Tableau n°14 : Patients ayant développé une immunisation dans le système HLA, détectée par la méthode ELISA**

**Tableau n°15 : patients positifs en ELISA, caractéristiques des greffons**

nom	durée d'ischémie froide (heure)	nombre total d'incompatibilités	incompatibilités DR	Délai de reprise de la fonction du greffon (jours)
Patient n°8	13,5	3	1	1
Patient n°9	16,45	6	2	7
Patient n°10	33,58	4	2	*
Patient n°11	35,43	1	1	3
Patient n°12	17,46	2	0	13
Patient n°13	2,7	6	2	1
Patient n°14	20,21	5	1	44
Patient n°15	24,61	3	1	12
Patient n°16	15,38	5	2	36
Patient n°17	28,6	4	1	26

**Légende :** dysfonction primaire du greffon

En post-greffe, les 10 patients, ainsi sélectionnés, présenteront 1 à 4 épisodes de rejet dans les deux premières années qui suivirent la transplantation. On note dans ce groupe également, un cas de dysfonction primaire du greffon.

Les différents rejets avaient une sévérité variable, des grades 1a à 2a, selon la classification de Banff (cf : tableau n°16)

Précisons que sur aucun des prélèvements effectués, y compris sur la pièce de transplantectomie, des dépôts de C4d dans les capillaires péri-tubulaires, significatifs d'un rejet aigu à médiation humorale, ne furent retrouvés. Soit qu'ils n'ont pas été recherchés, soit qu'ils n'ont pas été détectés par les techniques usuelles.

Les rejets de grade 1a et 1b étaient traités par bolus de méthylprednisolone. Les rejets de grade 2a étaient habituellement traités par thymoglobulines.

Tableau n° 16: patients ELISA positifs en après greffe ; épisodes de rejets et recherche des dépôts de C4d



	rejet n°	histologie	recherche de C4d	C4d présent/absent	traitement
<b>Patient n°8</b>	1	1a, CAN			bolus de corticoïdes
	1	1a	oui	absent	bolus de corticoïdes
<b>patient n°9</b>	2	1a, LCAT	non	/	bolus de corticoïdes
	3	LCAT	non	/	/
	1	2a	oui	absent	thymoglobulines
<b>patient n°10</b>	2	1b	non	/	bolus de corticoïdes
	3	1a	non	/	ND
<b>patient n°11</b>	1	1a	non	/	bolus de corticoïdes
	1	2a	oui	absent	thymoglobulines
<b>patient n°12</b>	2	1a	oui	absent	bolus de corticoïdes
	3	2a, CAN	oui	absent	bolus de corticoïdes
	1	1a	oui	absent	bolus de corticoïdes
<b>patient n°13</b>	2	2a	oui	absent	bolus de corticoïdes
	3	1b	non	/	bolus de corticoïdes
	4	1b	non	/	/
<b>patient n°14</b>	1	1a	oui	absent	bolus de corticoïdes
	2	1a	oui	absent	bolus de corticoïdes
<b>patient n°15</b>	1	1a	non	/	bolus de corticoïdes
	2	1a	oui	absent	/
	1	2a	non	/	thymoglobulines
<b>patient n°16</b>	2	1b	oui	absent	bolus de corticoïdes
	3	1a	oui	absent	bolus de corticoïdes
	1	2a	non	/	thymoglobulines
<b>patient n°17</b>	2	1a	oui	absent	bolus de corticoïdes
	3	1a	non	/	bolus de corticoïdes
	4	1b	oui	absent	bolus de corticoïdes

Si l'on s'intéresse de façon plus précise à l'immunisation après greffe de ces 10 patients, en ELISA, quatre présentaient des anticorps anti-HLA de classe 1 de façon exclusive, trois présentaient des anticorps anti-HLA de classe 2 de façon exclusive, et trois patients présentaient des anticorps dirigés à la fois contre les molécules HLA de classe 1 et 2. ( tableau n°17)

Concernant le sous-groupe de patients non immunisés avant la greffe (cinq patients), trois patients ont à ce jour des greffons non fonctionnels. Ces trois patients ont aussi en commun le fait d'avoir développé des anticorps spécifiquement dirigés contre des antigènes de leurs greffons respectifs:

- Le patient n° 10 a développé un anticorps de type IgG anti-A2 de son greffon, à peine 1 mois après la transplantation ; et comme évoqué précédemment, son greffon n'a jamais récupéré une quelconque autonomie en dépit d'un traitement par thymoglobulines pour un rejet vasculaire puis par bolus de solumédrol pour un rejet tubulo-interstitiel.
- Le patient n° 13 a donc développé un anticorps spécifique anti-donneur dirigé contre un antigène HLA de classe 1. Ce patient est très rapidement retourné en dialyse, 14 mois après transplantation, en dépit du traitement de 3 épisodes de rejet par bolus de solumédrol (*et SAL ?*).
- Enfin la patiente n°17 a également développé un anticorps spécifique anti-donneur, qui fut détecté 3 mois avant sa transplantectomie

Les patients n° 8 et 14 non immunisés avant greffe, ont développé des anticorps dirigés contre des antigènes HLA de classe 2, et ont à ce jour des greffons toujours fonctionnels.

Concernant les six patients, déjà immunisés avant transplantation, deux n'avaient pas modifier leur profil immunologique en post-greffe (patients n° 11, et15); les patients n°9 et 12 avaient développé des alloanticorps spécifiquement dirigés contre leurs greffons respectifs. Enfin la patiente n°16 présentait une réactivité en microlymphocytotoxicité vis-à-vis d'un antigène HLA de classe 2, une réactivité anti-HLA de classe 1 étant déjà présente avant la greffe.

**Tableau n°17 : patients ayant développé une immunisation significative en ELISA**

	immunisation avant greffe		immunisation après greffe		délai par rapport à la transplantation	délai par rapport au rejet
	ELISA	LCT	ELISA	LCT		
<b>patient n°8</b>	/	/	anticorps anti-HLA de classe 2	/	23 mois	20 mois
<b>patient n°9</b>	/	anticorps anti-HLA de classe I et II non spécifique en LCT	Anticorps anti-HLA de classe 1 anti-greffon	anticorps anti-HLA de classe I et II non spécifique en LCT	27 mois	27 mois (par rapport au premier épisode)
<b>patient n°10</b>	/	/	IgG anti-A2 du greffon	/	1 mois	1 mois
<b>patient n°11</b>	PRA 80% pour les antigènes HLA de classe 1 en ELISA	/	PRA 80% pour les antigènes HLA de classe 1	/	Non adapté*	Non adapté*
<b>patient n°12</b>	anticorps anti-HLA de classe II dirigés contre le 1 <sup>er</sup> greffon	anticorps anti-HLA de classe II dirigés contre le 1 <sup>er</sup> greffon	anticorps anti-HLA de classe II dirigés contre le 1 <sup>er</sup> greffon	Idem Suspicion d'anticorps anti-greffon anti-DQ4	3 mois	Non adapté*
<b>patient n°13</b>	/	/	anticorps anti-HLA de classe 1 dirigé contre le greffon	anticorps anti-HLA de classe 1 dirigé contre le greffon	15 mois	après transplantectomie
<b>patient n°14</b>	/	/	anticorps anti-greffon, DR8 DQ4	anticorps anti-greffon, DR8 DQ4	25 mois	24 et 25 mois après

<b>patient n°15</b>	PRA 80% pour les antigènes HLA de classe 1 et 2	PRA 80% pour les antigènes HLA de classe 1 et 2	PRA 80% pour les antigènes HLA de classe 1 et 2	PRA 80% pour les antigènes HLA de classe 1 et 2	Non adapté	Non adapté
<b>patient n°16</b>	PRA 80% pour les antigènes HLA de classe 1	PRA 80% pour les antigènes HLA de classe 1	PRA 80% pour les antigènes HLA de classe 1	réactivité LCT anti-classe 2 sur certains sérum	Non adapté	Non adapté
<b>patient n°17</b>	/	/	Présence d'IgG anti-classe I et II dont un anti-DR15 du greffon		22 mois après	10 mois après le dernier rejet, 3mois avant la transplantectomie

\* : non adapté car immunisé avant la greffe

En terme d'évolution, (tableau n°18), quatre patients (36,4%) sont à ce jour retournés en dialyse. Les patients n°13 et 18 ont perdu précocément leur greffon, après 4 épisodes de rejets aigus chacun. Le patient n°9 est également retourné en dialyse, notamment du fait de la récurrence précoce de la maladie initiale sur son greffon (déficit en LCAT). Enfin le patient n°10 a présenté une dysfonction primaire de son greffon.

Les six autres patients disposent d'un greffon fonctionnel, avec cependant une insuffisance rénale chronique en stade 2 voir 3 de l'HAS. (Les patients n°8, 12, 14, 15 et 16).

Seuls le patient n°11 dispose d'une fonction rénale satisfaisante (stade 1 de l'HAS).

Les stades de l'HAS pour l'insuffisance rénale sont décrits en annexe 3.

**Tableau n°18 : patients positifs en ELISA, évolution**

	Clairance à 1 an (ml/mn)	Clairance à 2ans	Protéinurie des 24 heures (g/24 heures)
<b>patient n°8</b>	41,8	51,45	0,19
<b>patient n°9</b>	/	/	/
<b>patient n°10</b>	/	/	/
<b>patient n°11</b>	50,9	75,12	0,53
<b>patient n°12</b>	23,4	31,6	0,94
<b>patient n°13</b>	14	/	0,17
<b>patient n°14</b>	37,5	49,9	0,14
<b>patient n°15</b>	24,3		0,2
<b>patient n°16</b>	19,7	21,2	3,2
<b>patient n°17</b>	19,7	/	3,24

Compte tenu de l'évolution particulièrement péjorative de certains de ces patients, notamment au sein du sous-groupe de patients ayant développé une immunisation *de novo*, nous nous sommes interrogés sur l'éventuelle présence de stigmates histologiques de rejet humoral en microscopie optique. Nous avons donc, tout comme pour les patients C4d positifs, procéder une relecture des différentes biopsies des greffons de ces 10 patients à l'occasion des épisodes de rejet. (cf : tableau n°19)

**Tableau n°19 : relecture des biopsies C4d négatives des patients ayant développé une immunisation en ELISA**

	Biopsie n°	Glomérulite à PNN	Glomérulite lymphocytaire	Dilatation des CPT	Afflux PNN dans CPT	Afflux de LC dans CPT	Thrombi intracapillaire	Nécrose fibrinoïde pariétale	Endothélite	Tubulite	NTA
<b>Patient 8</b>	1	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
<b>Patient 9</b>	1	+	+	++	-	+	-	-	-	++	-
	2	+	+	++	-	+	-	-	-	Bo	-
	3	+	+	++	-	+	-	-	-	-	-
<b>Patient 10</b>	1	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-
	2	-	+	+	-	-	-	-	-	++	-
<b>Patient 11</b>	3	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-
	1	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<b>Patient 12</b>	1	-	+++	+	-	+	-	-	+	+	-
	2	-	++	+	-	+	-	-	-	+	-
	3	+	++	-	-	-	-	-	+	++	-
<b>Patient 13</b>	1	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+
	2	-	+	+	-	+	-	-	+	++	+
	3	+	-	-	-	-	-	-	-	++	+
	4	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
<b>Patient 14</b>	1	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-
	2	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-
<b>Patient 15</b>	1	+/-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
	2	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+
<b>Patient n°16</b>	1	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-
	2	+	+++	+	+	+	-	-	-	++	-
	3	+	+++	+	+	+	-	-	-	+	-

<b>Patient 17</b>	1	-	+	+++	-	++	-	-	-	++	+
	2	-	+	+++	-	++	-	-	+	+	+
	3	-	+/-	+++	-	+	-	-	-	+	+
	4*	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+
	5*	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+

La relecture des différentes biopsies des patients fut intéressante à plusieurs titres.

Elle permit tout d'abord de redresser certains diagnostics puisque la troisième biopsie de la patiente n°12, initialement considérée comme un grade 1b était en réalité un grade 2a.

Concernant les éventuels stigmates de rejet humoral, d'une façon générale, ils étaient soit inexistantes soit discrets. Ainsi, aucune biopsie ne présentait de thrombi intracapillaires, de nécrose fibrinoïde pariétale. Les aspects de glomérulite à polynucléaires neutrophiles et de capillaires dilatés et engorgés de polynucléaires neutrophiles sont rares. Les lésions de tubulite et glomérulite lymphocytaire, l'engorgement des capillaires péri-tubulaires par des lymphocytes sont en revanche assez fréquents, mais non spécifiques car également décrits dans le rejet à médiation cellulaire.

Deux patients présentaient des aspects histologiques remarquables :

La patiente n°16, tout d'abord, fut biopsiée à trois reprises. Chaque prélèvement histologique montrait une glomérulonéphrite assez sévère à la fois à polynucléaires neutrophiles et lymphocytes, associée à un engorgement significatif des capillaires péri-tubulaires également par des lymphocytes et polynucléaires neutrophiles.

La patiente n°12, également biopsiée trois fois, avaient une glomérulite très intense, mais à prédominance de lymphocytaire, les polynucléaires neutrophiles n'apparaissant que sur la dernière biopsie.

Dans ce même ordre d'idée, on peut aussi citer les biopsies des patients n° 11 et 13, lesquelles présentaient de discrètes images de glomérulite à polynucléaires neutrophiles.

Enfin, on remarque que les biopsies du patient n° 10, en dépit d'une évolution clinique extrêmement péjorative, (dysfonction primaire du greffon) ne présentait pas de lésions orientant évoquant un rejet humoral hormis une dilatation isolée de capillaires péri-tubulaires, en l'absence d'engorgement par des cellules inflammatoires.



**Tableau n°20 : synthèse , patients positifs en ELISA après greffe**

	<b>Grade des rejets</b>	<b>Microscopie optique*</b>	<b>Anticorps anti-HLA</b>	<b>Traitement du rejet</b>	<b>Evolution</b>
<b>Patient 8</b>	1a, CAN	Dilatation des capillaires péricapillaires	anticorps anti-HLA de classe 2 en ELISA	Bolus de corticoïdes	favorable
<b>Patient 9</b>	1a, 1a et LCAT	Glomérulite à PNN, dilatation des capillaires péricapillaires	Anticorps anti-HLA de classe 1 anti-greffon	Bolus de corticoïdes	Perte précoce du greffon, récidence de LCAT
<b>Patient 10</b>	2a, 1b	Dilatation des capillaires péricapillaires	IgG anti-A2 du greffon	Thymoglobulines et bolus de corticoïdes	Dysfonction primaire du greffon
<b>Patient 11</b>	1a	Glomérulite à PNN	PRA 80% pour les antigènes HLA de classe 1 en ELISA	Bolus de corticoïdes	Clairance à 31,6
<b>Patient 12</b>	2a, 1a, 2a et CAN	Dilatation des capillaires péricapillaires	Suspicion d'anticorps anti-greffon anti-DQ4	Thymoglobulines et bolus de corticoïdes	favorable
<b>Patient 13</b>	1a, 2a, 1b, 1b	Glomérulite à PNN, dilatation des capillaires péricapillaires	anticorps anti-HLA de classe 1 dirigé contre le greffon en ELISA et LCT	Bolus de corticoïdes	Perte précoce du greffon
<b>Patient 14</b>	1a, 1a	Dilatation des capillaires péricapillaires	anticorps anti-greffon, DR8 DQ4	Bolus de corticoïdes	Clairance à 49,9
<b>Patient 15</b>	1a, 1a	Dilatation des capillaires péricapillaires	PRA 80% pour les antigènes HLA de classe 1 et 2, en ELISA et LCT	Bolus de corticoïdes	favorable
<b>Patient 16</b>	2a, 1b, 1a	Glomérulite à PNN, capillarite à PNN	PRA 80% pour les antigènes HLA de classe 1 en ELISA, réactivité LCT anti-classe 2	Thymoglobulines et bolus de corticoïdes	favorable
<b>Patient 17</b>	2a, 1a, 1b	Dilatation des capillaires péricapillaires	Présence d'IgG anti-classe I et II dont un anti-DR15 du greffon	Thymoglobulines et bolus de corticoïdes	Perte précoce du greffon

• : absence de thrombi intracapillaire et de nécrose fibrinoïde

## **D. Patients ayant développé une immunisation significative après greffe, détectée par microlymphocytotoxicité**

Afin d'être exhaustifs, dans notre étude des patients immunisés en post-greffe et sujets à un ou plusieurs épisodes de rejet, nous nous sommes ensuite intéressés à ceux, transplantés durant cette même période, et ayant développé une réactivité jugée significative en microlymphocytotoxicité, technique *a priori* moins sensible mais aussi moins spécifique que la technique ELISA.

Treize patients ont ainsi été sélectionnés. Il s'agissait de 7 hommes et 7 femmes, l'âge moyen était de 43,5 ans lors de la greffe [18-70].

Leurs principales caractéristiques sont récapitulées dans le tableau n° 21 ci-dessous.

Pour deux patients, il s'agissait d'une seconde transplantation rénale (n°27 et 30). Le patient n°24, avait bénéficié d'une transplantation combinée rein pancréas de façon simultanée. Le patient n°28 était parvenu en insuffisance rénale terminale, avec un greffon cardiaque fonctionnel.

Dans un cas, il s'agissait d'une transplantation à partir d'un donneur vivant apparenté du premier degré (n°21). Les 17 autres situations correspondaient à des transplantations à partir de donneurs cadavériques.

Les greffons provenaient de donneurs âgés, en moyenne 50,3 ans. La durée d'ischémie froide moyenne était de 20,5 heures [2,7-36,8 heures]. Le nombre d'incompatibilités totales entre le receveur et le greffon variait de 1 à 5, et les incompatibilités DR de 0 à 2.

Onze patients ont reçu un traitement d'induction : six par daclizumab et cinq par thymoglobulines. L'immunosuppression d'entretien reposait comme à l'accoutumée sur la trithérapie associant un inhibiteur de la calcineurine, du mycophénolate mofetil, des corticostéroïdes (tableaux n°21 et 22).

**Tableau n°21 : patients ayant développés une immunisation significative en microlymphocytotoxicité**

<b>nom</b>	<b>âge à la greffe (ans)</b>	<b>néphropathie initiale</b>	<b>n°de greffe</b>	<b>induction</b>	<b>immunosuppression d'entretien</b>
patient n°18	46		1	Thymoglobulines	cyclosporine / corticoïdes /MMF
patient n°19	49	Non étiquetée	1	daclizumab	cyclosporine/corticoïdes/MMF
patient n°20	18	Non étiquetée	1	daclizumab	cyclosporine/MMF/corticoïdes
patient n°21	20	Non étiquetée	1	thymoglobulines	Cyclosporine/corticoïdes
patient n°22	70	Non étiquetée	1	daclizumab	Tacrolimus/corticoïdes
patient n°23	57	Polykystose hépato-rénale	1	/	Tacrolimus/MMF/corticoïdes
patient n°24	38	Diabétique	1	thymoglobulines	Tacrolimus/MMF/corticoïdes
patient n°25	29	Dépôts d'IgA	1	thymoglobulines	Cyclosporine/MMF/corticoïdes
patient n°26	49	polykystose hépato-rénale	1	thymoglobulines	Cyclosporine/MMF/corticoïdes
patient n°27	39	Uropathie malformative	2	daclizumab	Tacrolimus/corticoïdes/mycophénolate mofetil
patient n°28	68	néphrotoxicité de la cyclosporine	1	daclizumab	Cyclosporine/corticoïdes/acide mycophénolique
patient n°29	39	Polykystose hépato-rénale	1	daclizumab	Cyclosporine/corticoïdes/acide mycophénolique
patient n°30	44	Familiale	2	/	Tacrolimus/MMF/corticoïdes

Légende : MMF (mycophénolate mofetil)

**Tableau n°22 : patients ayant développé une immunisation significative en microlymphocytotoxicité :**

nom	relation donneur/receveur	durée d'ischémie froide (heure)	données du greffon		Reprise différée de la fonction
			nombre total d'incompatibilité	incompatibilités DR	
patient n°18	cadavre	28	3	1	34
patient n°19	cadavre	31,3	4	1	9
patient n°20	cadavre	35,9	4	1	26
patient n°21	frère/sœur	2,7	5	1	1
patient n°22	cadavre	11,3	4	2	3
patient n°23	cadavre	28,8	1	0	2
patient n°24	cadavre	15,25	4	1	1
patient n°25	cadavre	11,4	5	2	10
patient n°26	cadavre	15,25	3	0	1
patient n°27	cadavre	13,28	4	0	1
patient n°28	cadavre	36,8	1	0	9
patient n°29	cadavre	14,8	0	0	7
patient n°30	cadavre	22,7	4	1	18

Concernant l'immunisation avant la greffe, seuls quatre patients avaient des anticorps détectables en microlymphocytotoxicité :

- Le patient n°28 aux antécédents en transplantation cardiaque,
- Les patients n°27 et 30 aux antécédents de transplantation rénale,
- La patiente n°29 n'a pas de causes évidentes d'immunisation, hormis d'éventuelles grossesses.

Tous les autres patients n'avaient pas d'immunisation détectable avant transplantation, que ce soit en microlymphocytotoxicité ou en ELISA (tableau n°23).

En post-greffe, ces patients avaient développé une immunisation détectable par microlymphocytotoxicité sur au moins un sérum, à l'encontre d'antigène HLA de classe 1 seul pour deux d'entre eux, à l'encontre d'un antigène HLA de classe 2 pour sept autres, dirigés contre les antigènes HLA de classe 1 et 2 pour quatre autres. Les patients déjà immunisés avant greffe n'avaient pour la plupart pas modifié leur profil immunologique en post-greffe, à l'exception du patient n°31, il s'agissait cependant de modifications minimales. En terme d'évolution, les quatorze patients présentaient encore un greffon fonctionnel, deux à trois ans après leur transplantation. Le niveau de fonction des greffons était variable mais globalement satisfaisant, puisque 5 d'entre eux avaient une fonction normale (clairance selon cockroft supérieur à 90 ml/mn), 9 étaient au stade 1 d'insuffisance rénale selon l'HAS, seuls deux patients étaient en stade 2 d'insuffisance rénale.

**Tableau n°23 : patients positifs en microlymphocytotoxicité : immunisation pré- et post-greffe, épisodes de rejet**

	Immunisation avant greffe		Immunisation après greffe		délai par rapport à la greffe	délai par rapport au rejet
	ELISA	LCT	ELISA	LCT		
<b>patient 18</b>	/	/	/	IgM classe I sans spécificité réactivité anti-classe 2 faible	19 jours	4 jours
<b>patient 19</b>	/	/	/	large réactivité en LCT classe II (80%)	11 mois après	10 mois après
<b>patient 20</b>	/	/	/	une réactivité en classe II (33%) en LCT	13 mois après	6 mois après le dernier épisode de rejet
<b>patient 21</b>	/	/	/	réactivité classe 1 et 2 en LCT (36%)	12 mois après	11 mois après
<b>patient 22</b>	/	/	/	réactivité LCT	24 mois après	24 mois après
<b>patient 23</b>	/	/	/	ELISA négatif, une réactivité LCT classe I (67%)	21 jours après	10 jours après
<b>patient 24</b>	/	/	/	ELISA négatif, réactivité LCT classe II (10%)	19 mois après	18 mois après
<b>patient 25</b>	/	/	/	réactivité LCT classe II (56%)	24 mois après	23 mois après le dernier épisode de rejet
<b>patient 26</b>	/	/	/	réactivité IgM classe II sur 2 sérum (86% puis 6%)	5 et 25 mois après	7 jours avant le dernier épisode de rejet
<b>patient 27</b>	/	immunisé classe I et classe II	/	immunisé classe I et classe II	/	/

<b>patient 28</b>	/	réactivités classe II sans spécificités définies	/	réactivité classe II sans spécificité à ce jour	/	/
<b>patient 29</b>	/	immunisé classe I et classe II	/	immunisé classe I et classe II	/	/
<b>patient 30</b>	/	ELISA négatif, réactivité IgM classe I rare	/	Réactivité anti- classe I et II 60%	3 mois après la greffe	1 semaine avant le dernier épisode de rejet (Bo)

Ces patients ont développé chacun 1 à 4 épisodes de rejet aigu, gradés selon la classification de Banff des stades 1a à 2a. Sept épisodes de rejet, concernant quatre patients (patients n° 18, 28, et 29) ne seront pas confirmés en histologie, mais uniquement suspectés sur des critères cliniques et biologiques. Toutes les biopsies n'avaient pas systématiquement fait l'objet d'une recherche des dépôts de C4d dans les capillaires péri-tubulaires. (cf : tableau n°24). Tout comme pour les deux séries précédentes de patients, ceux dont l'histologie était positive pour les dépôts de C4d et ceux ayant développé de façon certaine une immunisation HLA en post-greffe, par la technique ELISA, nous nous sommes intéressés aux biopsies de greffon de ces treize patients, effectuées à l'occasion de la suspicion d'épisodes de rejet. Nous avons donc procédé de façon similaire à une relecture rétrospective des différentes lames (tableau n°25).

Dans ce groupe également, les lésions typiques de rejet aigu humoral ne sont pas observées : nécrose fibrinoïde pariétale et thrombi intracapillaires sont absents. La glomérulite à polynucléaires neutrophiles n'est retrouvée que chez un patient, et ne se limite qu'à 1 ou 2 polynucléaires neutrophiles par glomérule. La glomérulite lymphocytaire est revanche plus fréquemment rencontrée (3 patients), de même que la dilatation des capillaires péri-tubulaires (8 patients). Lorsqu'ils sont dilatés, ces capillaires ne sont ici jamais engorgés de polynucléaires neutrophiles mais sont le siège d'un afflux de lymphocytes d'importance variable.

Certains patients montreront, à l'analyse des biopsies successives, des éléments en faveur d'un rejet chronique accélérée avec notamment des lésions de glomérulopathie moins de 1an après la greffe, ce qui en ce contexte est fortement suspect d'une participation prépondérante de l'alloimmunité humorale (patient n°26).



**Tableau n°24 : groupe de patients ayant développé une immunisation significative détectée par microlymphocytotoxicité :**  
**Les différents épisodes de rejets et recherche de C4d**

	Biopsie n°	histologie	Recherche du C4d	C4d absent/présent	traitement
<b>Patient 18</b>	/	/	/	/	Bolus de corticoïdes
<b>Patient 19</b>	1	1a	non	/	Bolus de corticoïdes
	1	N*	/	/	Bolus de corticoïdes
<b>Patient 20</b>	2	N*	/	/	Bolus de corticoïdes
	3	1a	non	/	Bolus de corticoïdes
<b>Patient 21</b>	1	1a	oui	Absent	Bolus de corticoïdes
<b>Patient 22</b>	1	1a	non	/	Bolus de corticoïdes
<b>Patient 23</b>	1	2a	oui	absent	?
<b>Patient 24</b>	1	1b	oui	absent	Bolus de corticoïdes
	1	N**	non	/	/
<b>Patient 25</b>	2	1a	non	/	Bolus de corticoïdes
	3	1a, GA	oui	absent	Bolus de corticoïdes
	1	1a	non	/	Bolus de corticoïdes
<b>Patient 26</b>	2	1a	non	/	Bolus de corticoïdes
	3	1a, CAN	oui	absent	Bolus de corticoïdes
<b>Patient 27</b>	1	/	/	/	Bolus de corticoïdes
<b>Patient 28</b>	1	N**			Bolus de corticoïdes
<b>Patient 29</b>	1	/	/	/	bolus de corticoïdes
<b>Patient 30</b>	1	1b	oui	absent	Bolus de corticoïdes
	2	Bo	non	/	/

Légende : N\* : non biopsié, N\*\* : traitement avant biopsie, histologie normale ; CAN : néphropathie chronique du transplant ; GA glomérulopathie d'allogreffe.

**Tableau n°25 : relecture des biopsies C4d négatives des patients immunisés en microlymphocytotoxicité**

	Biopsie n°	Glomérulite à PNN	Glomérulite lymphocytaire	Dilatation des CPT	Afflux PNN dans CPT	Afflux de LC dans CPT	Thrombi intracapillaire	Nécrose fibrinoïde pariétale	Endothélie	Tubulite	NTA
patient 18	0	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
patient 19	1	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+/-
patient 20	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
patient 21	1	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
patient 22	1	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
patient 23	1	-	-	+	-	+	-	-	+	++	-
patient 24	1	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+
	1	+/-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
patient 25	2	-	+	+/-	-	+	-	-	-	+	-
	3*	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
	1	-	-	+	-	+	-	-	-	++	+
patient 26	2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
	3*	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
patient 27	0	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
patient 28	1	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-

<b>patient</b>	0	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
<b>29</b>											
<b>patient</b>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<b>30</b>	2	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-

Légende : patient 28, 3\* : glomérulopathie d'aloogreffe, patient 29, 3\* : néphropathie chronique du transplant

L'évolution clinique de ce sous-groupe était peu satisfaisante. Les treize patients présentaient encore un greffon fonctionnel, deux ans après leur transplantation. Le niveau de fonction des greffons était variable : quatre étaient au stade 1 d'insuffisance rénale selon l'HAS, six étaient en stade 2, une patiente était au stade 3.

**Tableau n°26 : patients positifs en microlymphocytotoxicité : évolution**

	<b>Clairance à 1 an (ml /mn)</b>	<b>Clairance à 2 ans (ml/mn)</b>	<b>protéinurie des 24h (g/24h)</b>
patient 18	49,5		0,31
patient 19	50,6	58,3	1,47
patient 20	49,6	62,03	0,63
patient 21	68,2	70,6	0,26
patient 22	30,6	43,1	0
patient 23	61,6	ND	0
patient 24	52,5	73,1	0,18
patient 25	52,7	52,5	0,32
patient 26	54	55,4	0,48
patient 27	42,5	47,0	0,29
patient 28	30,7	39,7	0,400
patient 29	35,3	16,4	0,18
patient 30	56,7	61,7	0,140

**Tableau n°27 : patients immunisés en microlymphocytotoxicité, synthèse**

	Grade des rejets	Microscopie optique	Anticorps anti-HLA	Traitements des rejets	Stade HAS
patient 18	N	/	IgM classe I sans spécificité réactivité anti-classe 2 faible	Bolus de corticoïdes	2
patient 19	1a	/	large réactivité en LCT classe II (80%)	Bolus de corticoïdes	0
patient 20	N, N, 1a	/	une réactivité en classe II (33%) en LCT	Bolus de corticoïdes	0
patient 21	1a	Dilatation CPT	réactivité classe 1 et 2 en LCT (36%)	Bolus de corticoïdes	0
patient 22	1a	/	réactivité LCT classe I et classe II	Bolus de corticoïdes	1
patient 23	2a	Dilatation CPT	ELISA négatif, une réactivité LCT classe I (67%)	thymoglobulines	0
patient 24	1b	/	ELISA négatif, réactivité LCT classe II (10%)	Bolus de corticoïdes	0
patient 25	N, 1a, 1a, GA	/	réactivité LCT classe II (56%)	Bolus de corticoïdes	1
patient 26	1a, 1a, 1a, CAN	Dilatation CPT	réactivité IgM classe II sur 2 sérum (86% puis 6%)	Bolus de corticoïdes	1
patient 27	N	/	immunisé classe I et classe II	Bolus de corticoïdes	1
patient 28	N	Dilatation CPT	réactivité classe II sans spécificité à ce jour	Bolus de corticoïdes	1
patient 29	N	/	immunisé classe I et classe II	Bolus de corticoïdes	2
patient 30	1b, Bo	/	Réactivité anti-classe I et II 60%	Bolus de corticoïdes	0

## ***E. Diagnostic de rejet humoral***

Sur un total de 151 greffes, on note donc 103 épisodes de rejets dont 92 confirmés en histologie. Sept biopsies avaient des dépôts significatifs de C4d dans les capillaires péritubulaires. En terme d'immunisation, 12 s'étaient positivés en ELISA, dont deux présentaient également des dépôts de C4d, sur une de leur biopsie ; treize s'étaient positivés en microlymphocytotoxicité.

Si l'on s'en tient aux critères de la classification de Banff pour le diagnostic du rejet humoral, celui-ci peut- être retenu de pour 8 patients, associant deux des trois critères, histologique, immunohistochimiques, sérologiques:

- Critères histologiques et immunohistochimiques pour la patiente n°2,
- Critères sérologiques et immunohistochimiques pour les patients n°4, 6, et 7,
- Critères sérologiques et histologiques pour les patients n° 9, 10, 13, et 14.

Il est pratiquement certain chez les patients n°12 et 17 en raison de la détection d'anticorps spécifiques dirigés contre les antigènes du greffon, lesquels sont par définition la cause du rejet humoral, et d'une détérioration rapide de la fonction de ce dernier pour l'un, et un retour rapide en dialyse pour l'autre.

Il doit être évoqué chez la patiente n°16, laquelle présente des critères histologiques persistants de rejet humoral, associés à une évolution clinique peu favorable, mais en l'absence de dépôts de C4d et d'une immunisation spécifique.

En revanche pour les patients n°1, 5 et 3, ce diagnostic peu être discuté, surtout pour le patient n°3, devant une évolution clinique plutôt favorable et en l'absence d'une immunisation spécifique.

Les principales caractéristiques de ces quatorze patients sont rappelées dans le tableau n°27

Ces patients étaient âgés en moyenne de 55,7 ans, celui des donneurs était en moyenne de 57 ans. La durée d'ischémie froide était en moyenne de 18,7 heures. Dans deux cas, il s'agissait d'une transplantation à partir d'un donneur vivant, pour l'un apparenté (n°3), pour l'autre non apparenté (n°13).

**Tableau n°28 : patients suspects de rejet à médiation humorale, récapitulatif.**

	Nombre d'incompatibilités	ischémie froide (heures)	induction	histologie	C4d	immunisation avant greffe	immunisation après greffe	Clairance à 2ans (ml/mn)
<b>patient 1</b>	5	29,3	daclizumab	1b	+	0%PRA	ELISA négatif, anti-classe I et anti-classe II en LCT (pas greffon)	34
<b>patient 2</b>	2	17	non	2b, nécrose fibrinoïde et thrombi intracapillaire	+	38%PRA, présence d'un anti-A2	Anti-A2 réactivité négative en ELISA anti-B	Dysfonction primaire, lymphome du greffon
<b>patient 3</b>	3	2,5	non	1a	+	21%PRA, ELISA négatif, réactivité IgM classe 2	ELISA négatif, réactivité IgM classe 2	69,8
<b>patient 4</b>	4	27	daclizumab	1b	+	90% PRA réactivité IgM classe II en LCT	réactivité classe II sans spécificité à ce jour IgG anti-DQ4 en juillet 2005	glomérulopathie d'allogreffe, transplantectomie, retour en dialyse
<b>patient 5</b>	4	23,9	non	2a	+	45%PRA, ELISA négatif, réactivité IgM classe 2	ELISA négatif, réactivité IgM classe 2	37,9ml/mn
<b>patient 6</b>	4	11	daclizumab	2a	+	0%PRA	Immunisation anti-greffon (DQ2) en 2004, négativé en 2005	37,08 ml/mn
<b>patient 7</b>	6	16,5	thymoglobulines	2a et GA*	+	ELISA négatif, réactivité anti-B en LCT en mars 2004	Positif en ELISA de classe 2 depuis mai 2006 : suspicion d'anti-DQ6 contre le greffon	retour en dialyse

<b>Patient 9</b>	6	16,45	non	1a,1a LCAT, glomérulite à PNN, dilatation des CPT	-	anticorps anti- HLA de classe I et II non spécifique en LCT	Anticorps anti-HLA de classe I anti-greffon	Perte précoce du greffon, retrou en dialyse et transplantectomie
<b>patient 10</b>	4	33,58	non	2a, 1b, 1a	-	négatif	IgG anti-A2 du greffon Idem	dysfonction primaire du greffon
<b>Patient 12</b>	2	17,46	non	2a, 1a, 2a, CAN	-	anticorps anti- HLA de classe II dirigés contre le 1 <sup>er</sup> greffon	Suspicion d'anti-DQ4	31,6
<b>patient 13</b>	6	2,7	non	1a, 2a, 1b, 1b, thrombi dans un capillaire glomérulaire	-	négatif	anticorps anti-HLA de classe I dirigé contre le greffon en ELISA et LCT	retour en dialyse et transplantectomie
<b>Patient 14</b>	1	20,21	daclizumab	1a, 1a, glomérulite à PNN	-	/	anticorps anti-greffon, DR8 DQ4	49,9
<b>patient 16</b>	5	15,38 h	daclizumab	2a, 1b, 1a, glomérulite et capillarite à PNN	-	PRA 80% pour les antigènes HLA de classe I	PRA 80% pour les antigènes HLA de classe I et réactivité LCT anti- classe II sur certains sérum	21,2
<b>patient 17</b>	4	28,6 h	non	2a, 1a, 1a, 1b	-	négatif	Présence d'IgG anti- classe I et II dont un anti-classe II du greffon	retour en dialyse et transplantectomie



### III.DISCUSSION

L'étude de cette série de 33 patients, ayant développé un ou plusieurs épisodes de rejets soulève plusieurs interrogations :

En fonction de l'association des différents critères de rejet humoral : dysfonction du greffon en présence :

- ✓ D'un alloanticorps spécifique d'un antigène du greffon
- ✓ De dépôts significatifs de la fraction C4d du complément dans les capillaires péri-tubulaires
- ✓ De glomérulite et/ou d'une capillarite à polynucléaires neutrophiles ; d'une dilatation des capillaires péri-tubulaires ; de lésion de nécrose fibrinoïde pariétale, de thrombi intracapillaires, en microscopie optique,

Un diagnostic rétrospectif de rejet médié par les anticorps peut-être fortement suspectés chez 14 patients, (cf tableau n°28):

Si l'on se réfère aux critères classiques du rejet humoral, son incidence serait ici, de 13,6%, contre 20 à 30% dans la littérature :

Ce sous-diagnostic du rejet humoral, pourrait être, ici, expliqué par plusieurs éléments.

On observe tout d'abord, que 9,8% des épisodes de rejet n'ont pas eu de confirmation histologique ; les biopsies percutanées de greffon n'ayant pu être réalisées, soit pour des raisons anatomiques et/ou, soit du fait de la nécessité de poursuivre un traitement anticoagulant au long cours.

Dans un cas, la biopsie était peu contributive, le traitement du rejet par bolus de corticoïdes ayant été débuté avant le geste, du fait de l'urgence thérapeutique.

Les dépôts de fraction C4d du complément dans les capillaires péri-tubulaires n'ont pas été systématiquement recherchés, notamment par insuffisance du matériel histologique nécessaire pour un complément d'analyse en immunofluorescence.

Tous ces facteurs sont fort probablement à l'origine d'une stratégie de détection du rejet humoral en transplantation rénale, non optimale.

Le diagnostic de rejet humoral est certain pour les patients présentant un alloanticorps spécifiquement dirigé contre un antigène HLA du greffon.

Dans notre série, ceci est le cas pour neuf des patients précédemment identifiés. Trois d'entre eux, (n° 4, 6 et 7), montraient, en outre sur une des biopsies de leur greffon, des dépôts de C4d significatifs dans les capillaires péri-tubulaires, et ont connu une évolution défavorable, avec perte précoce du greffon (n°4 et 7) ou dysfonction chronique (n°6).

Ceci est également le cas pour six autres de ces patients, (n° 9, 10, 12, 13, 14, et 17), qui, en dépit de l'absence de dépôts significatifs de C4d dans les capillaires péri-tubulaires, ont aussi eu une évolution particulièrement péjorative, puisqu'on retrouve un cas de dysfonction primaire du greffon (patient n°10) et trois pertes précoces de greffons avec retour en dialyse (patient n°9, 13 et 17) ; les deux autres (n°12 et 13) conservant une insuffisance rénale chronique de stade 2 à 3.

Ces résultats, corroborent en différents points les données de la littérature : le rejet humoral ne peut-être affirmé, en présence d'une dysfonction du greffon, que par la mise en évidence d'alloanticorps spécifiquement dirigés contre les antigènes du donneur (66). R.A. Montgomery, rappelait ainsi (67) que le diagnostic ferme de rejet médié par les anticorps soit

défini par l'association d'une dysfonction du greffon, de lésions histologiques et immunohistologiques et la présence d'anticorps anti-donneur, ces différents éléments étaient rarement disponibles simultanément.

Le diagnostic de rejet humoral est certain chez la patiente n°2, et fort probable chez la patiente n°16 en dépit de l'absence d'alloanticorps spécifiquement dirigés contre leurs greffons respectifs. En effet, il doit être évoqué devant l'association d'une dysfonction de greffon et de critères histologiques seuls pour la patiente n° 16 (glomérulite et capillarite à polynucléaires neutrophiles), histologiques et immunohistochimiques pour la patiente n°2 (dépôts de C4d, nécrose fibrinoïde et thrombi intracapillaire). Là aussi, l'évolution clinique est peu satisfaisante puisque l'une d'elle présente une non fonction primaire de son greffon, tandis que l'autre conserve une dysfonction chronique. En dépit de l'absence d'alloanticorps spécifique, ces deux patientes étaient, toutefois significativement immunisées avant greffe.

Enfin, pour les trois autres patients, le rejet humoral est suspecté, compte-tenu de l'association d'une dysfonction du greffon et d'un critère immunohistochimique (dépôts de C4d).

Pour Montgomery (67), les facteurs de risque majeurs de rejet humoral sont : le don d'organes du mari à son épouse, de l'enfant à sa mère, grossesse, transfusion, transplantations antérieures, production d'anticorps spécifiques anti-HLA historique ou actuelle. Si l'on se rapporte à nos 14 patients, les deux transplantations à partir de donneurs vivants ne correspondaient pas aux situations précitées, puisqu'il s'agissait du don d'une épouse à son mari, et d'une sœur à son frère. En revanche, on notait deux deuxièmes greffes et une patiente aux antécédents de transfusions itératives en raison d'une thalassémie.

Cette immunisation, avant transplantation, constitue très certainement un obstacle à la détection, par les techniques classiques, d'alloanticorps spécifiques du greffon, générés *de novo*. L'analyse du cas des deux patientes, immunisée avant greffe, et ne présentant que des critères histologiques +/- immunohistochimiques, conduit donc à s'interroger d'une part sur la possibilité d'un rejet d'allogreffe à médiation humorale en l'absence d'anticorps détectable et d'autre part sur la signification de la présence d'alloanticorps anti-HLA non spécifiquement dirigés contre les antigènes du greffon.

Dans une publication datant de 2001 de M. Crespo, (66) retrouvait également comme facteurs de risque de rejet humoral, une hyperimmunisation avant greffe et/ou des antécédents de pertes de greffons, suggérant ainsi qu'il existerait un état général d'alloréactivité humorale accentuée : les patients seraient ainsi « hyperrépondeurs » et développeraient plus facilement une réponse anti-donneur spécifique. Elle retrouvait aussi, tout comme dans notre série, une proportion plus élevée de transplantations à partir de donneurs cadavériques : les lésions d'ischémie majorant l'immunogénicité de l'organe transplanté.

Le pronostic du rejet humoral est ici tout particulièrement péjoratif. Le taux de survie à un an variant de 15 à 50% selon les séries, en dépit de thérapeutiques immunosuppressives conventionnelles intensives. Néanmoins, comme souligné précédemment, quelques succès ont été obtenus avec certains agents ciblant spécifiquement l'alloimmunité humorale. P.N. Rocha (68) décrivait une survie à un an de 81% sur une population de 16 patients ayant développé un rejet humoral aigu et traités par échanges plasmatiques et immunoglobulines intra-veineuses à fortes doses. Il soulignait, toutefois, le caractère impératif d'un diagnostic précoce, pour la réussite de ces thérapeutiques adaptées.

Aucun de nos patients ne recevra de traitement spécifique. Seul un d'entre eux (patient n°3) jouissait d'une fonction de greffon normale avec une clairance, deux ans après transplantation, supérieure à 60 ml/mn. Le taux de survie de ces greffons à deux ans était donc

de 50%.(deux non fonction primaire, cinq pertes de greffon avec retour en dialyse).

Le patient dont l'évolution fut favorable, en dépit de la présence de dépôts de C4d, avait bénéficié d'une greffe à partir d'un donneur vivant apparenté. Il n'avait d'ailleurs pas développé d'immunisation spécifique dirigée contre les antigènes de son donneur. Ceci souligne la prééminence du critère sérologique (détection d'alloanticorps spécifique) sur les critères histologiques et immunohistochimiques. Les dépôts de C4d dans les capillaires périrubulaires en transplantation rénale, pourrait être la conséquence d'un processus autre que l'alloimmunité humorale : comme évoqué précédemment, ils peuvent résulter d'une activation locale intra-tissulaire du complément, à la faveur de lésions d'ischémie reperfusion. Des dépôts de C4d au niveau de zones ischémiques ont également été décrits en transplantation cardiaque. On note ainsi que les deux autres patients ne présentant que ce seul critère immunohistochimiques, bien que ne disposant pas d'une fonction rénale normale, n'ont pas connu l'évolution la plus péjorative.

Le délai de reprise de la fonction du greffon est un paramètre intéressant de cette série. En effet pour ces 14 patients, si l'on exclue le deux cas non fonction primaire, ce délai était en moyenne de 13 jours, [0-44] : pour 5 de ces 12 patients, il était supérieur à 10 jours. Pour M. Crespo, (66) non fonction et reprise différée de la fonction du greffon, seraient dus à de faibles taux d'alloanticorps spécifiques du donneur, non détectés avant greffe, mais qui le deviendraient dans les jours qui suivent la transplantation. Elle confirmait son hypothèse dans ce même article de 2001 où elle étudiait 51 épisodes de rejets aigus cortico-résistants : au sein de cette série, deux patients avec non fonction primaire de leur greffon, avaient un crossmatch rétrospectif sur cellules congelées du donneur faiblement positif. Ces deux cas ne répondaient cependant pas à la définition de rejet hyperaigu. En effet, au scanner il persistait une vascularisation dans les premiers jours en post-transplantation. Toutefois, pour cet auteur, la pathogénie du rejet hyperaigu et celle du rejet humoral se présentant comme une non fonction primaire du greffon est similaire.

Tout comme, la reprise différée de la fonction du greffon, les quatre cas de rejets terminaux avec nécessité de transplantectomie, doivent également attirer notre attention : pour deux d'entre eux, les anticorps spécifiques du donneur sont apparus plusieurs mois après le retrait du greffon, pour le dernier, ils étaient en revanche apparus près de 18 mois avant. Deux évidences apparaissent : le rejet terminal du greffon ne survient le plus souvent que plusieurs années après la détection des anticorps d'une part, et lorsque l'anticorps est mis en évidence, il ne s'agit le plus souvent pas d'un anticorps spécifique anti-donneur probablement parce qu'ils sont adsorbés dans le greffon ; cependant lorsque le greffon est complètement rejeté ils apparaissent invariablement. Pour Terasaki, (18, 19), la fréquence des anticorps en transplantation d'organes seraient de près de 20% après greffe, lorsqu'ils sont recherchés par cytométrie de flux. Il constate également, que ceux-ci peuvent apparaître des années après la perte du greffon. Les limites de la détection en pratique courante seraient bien évidemment dépendante du choix de la technique, mais aussi du type d'immunosuppression inhibant plus ou moins la synthèse de ces alloanticorps. Ainsi ils seraient plus fréquemment détectés en cas d'association de type cyclosporine A/azathioprine (18,1%). Leur prévalence serait bien plus basse, tacrolimus/acide mycophénolique.

Le choix de la technique de détection des anticorps anti-HLA, s'avère donc déterminant, avant et après transplantation, pour la prévention puis le traitement des épisodes de rejets humoraux. En effet, classiquement, un crossmatch vis-à-vis des cellules T du donneur, obtenue par microlymphocytotoxicité est une contre-indication formelle à la greffe. Les limites de cette technique ont déjà été discutées dans la première partie. En revanche,

Karpinsky, en 2001 (69) estimait ainsi qu'un dépistage positif, avant transplantation, en microlymphocytotoxicité, même sensibilisée par l'adjonction d'une IgG anti-humaine (AHG-CDC) n'était pas nécessairement corrélé à la survenue de complications immunologiques après greffe. Dans son étude portant sur 203 patients greffés entre juin 1992 et juin 2000, il notait ainsi, une fréquence plus élevée de perte précoce de greffon et d'épisodes de rejets aigus précoces, en cas de dépistages, avant greffe, rétrospectifs positifs en cytométrie de flux. Ce risque n'est cependant pas absolu. Ainsi, un crossmatch par cytométrie de flux positif vis-à-vis des cellules T du donneur est une contre-indication relative à la transplantation et complique donc la position du clinicien quant à l'attribution du greffon.

Parmi nos 14 patients nancéens identifié comme ayant développé un rejet humoral, huit étaient immunisés avant greffe, (en ELISA ou par microlymphocytotoxicité) : quatre d'entre eux, développeront un anticorps spécifique à l'encontre du greffon dans les suites de la transplantation. Il aurait très certainement été intéressant d'effectuer un crossmatch rétrospectif par cytométrie de flux chez ces derniers. En effet, en cas de transplantations à partir de donneurs cadavériques les crossmatch par cytométrie de flux ne sont pas effectués en pré-greffe, contrairement aux transplantations à partir de donneurs vivants. On note ainsi, que le patient ayant bénéficié d'un greffon provenant de sa sœur, avait donc été testé en cytométrie de flux, laquelle n'avait détectée qu'une immunisation non spécifique, n'avait pas développé en post-greffe d'anticorps spécifiques du donneur, en dépit de la présence de dépôts de C4d sur son greffon à l'occasion d'un épisode de rejet.

Dans ce même ordre d'idée, l'absence de détection d'alloanticorps anti-HLA spécifiques ou non, en présence d'un patient hautement suspect de rejet humoral peut résulter de l'emploi d'une technique peu sensible, ou d'une « capture » de ces derniers au niveau du greffon. Ils ne sont alors pas détectés dans le sang circulant.

Les anticorps de type anti-HLA non spécifiques du donneur en post-greffe, doivent également être pris en compte. Il a pu être démontré qu'ils étaient aussi associés à une moins bonne survie du greffon (70). Plusieurs hypothèses peuvent être évoqués :

- ✓ Comme mentionné plus haut, il pourrait s'agir d'un état général d'alloréactivité humorale accentuée.
- ✓ Pour certains auteurs, il peut également s'agir d'anticorps dirigés contre des antigènes exposés uniquement lors de lésions du greffon en particulier en cas de nécrose tubulaire aigue (71).
- ✓ Enfin, les techniques usuelles de détection peuvent s'avérer défailtantes pour la mise en évidence d'une spécificité antigénique correspondant à un épitope du donneur.

Concernant la « capture » des alloanticorps spécifiques, ce phénomène est parfaitement illustré par le cas des patients n°9 et 18 : ces deux patients ont développés des anticorps spécifiques de leurs greffons au décours immédiat ou plus à distance d'une transplantectomie. Lors de l'intervention, les alloanticorps « emprisonnés » dans le greffon sont libérés dans la circulation périphérique et deviennent alors plus aisément détectables par les techniques classiques. La transplantectomie n'étant certes pas à préconiser de manière systématique en cas de rejet humoral, en l'absence d'alloanticorps spécifiques anti-HLA, les techniques d'éluion à partir de fragments de greffons obtenus lors de biopsie percutanée pourrait-être proposée dans les cas de dysfonction d'allogreffe avec stigmates histologiques et immunohistochimiques d'implication de l'alloimmunité humorale, mais sans confirmation sérologique. Cela pourrait-être ainsi envisagé pour certains de nos patients.

Une autre cause de défaut de détection d'alloanticorps au cours du rejet humoral, serait la

présence d'anticorps dirigés contre des antigènes d'histocompatibilité mineurs du greffon, évoqués en première partie : antigènes endothéliaux, molécules MICA/MICB, récepteurs AT1 de l'angiotensine 2, antigènes de la membrane basale glomérulaire.

Ainsi, expérimentalement certains auteurs retrouvèrent des anticorps anti-MICA dans le sérum de patients rejetant leur greffon en l'absence d'anticorps anti-HLA détectables. Zou (72) obtenaient de tels anticorps par élution de greffons rénaux ayant fait l'objet d'un rejet immunologique. Les antigènes MIC ont également leur importance en transplantation de cellules souches, Kitcharoen, a ainsi pu montrer qu'en transplantation médullaire, la survie des patients est majorée, en cas d'appariement au niveau des loci, MIC. Les nouvelles techniques de détection des alloanticorps, notamment la cytométrie de flux, ont ici toute leur place.

Enfin, comme évoqué précédemment, certains composants de la membrane basale glomérulaire, notamment l'agrane et le perlecan, pourraient également susciter une alloréactivité humorale, notamment en cas de glomérulopathie d'allogreffe.

Parmi les quatorze patients précédemment identifiés, un seul présentait de façon formelle des lésions de glomérulopathie du greffon sur sa dernière biopsie. Dans ce cas précis, des alloanticorps de type anti-HLA avaient été identifiés quatre mois avant son retour en dialyse.

Bien que d'importance très certainement sous-estimée, les alloanticorps spécifiques du donneur mais non anti-HLA ne font pas encore l'objet d'une recherche systématique en pratique courante. Précisons, que nous nous plaçons ici dans le cadre bien précis de la transplantation ABO compatible.

Un autre élément important soulevé par l'analyse de ces observations nancéennes, certes en nombre limité, est l'impact relatif de la présence de dépôts de fraction C4d du complément dans les capillaires péritubulaires, en tant que critère pronostique péjoratif. En effet, toujours parmi nos quatorze patients, sept présentaient de tels dépôts. Sur ces sept patients, trois, avaient un greffon non fonctionnel deux ans après la greffe, soit par non fonction primaire, soit suite à une perte précoce du transplant. De plus un autre de ces patients C4d positifs, conservait une fonction rénale normale. En revanche, si l'on se focalise sur le paramètre « présence d'alloanticorps spécifiques du greffon », sur les neuf patients, six n'avaient plus de greffons fonctionnels deux ans après la greffe, les trois autres n'ayant en aucun cas une fonction rénale normale.

Initialement considérés comme la signature de l'action de l'alloimmunité humorale sur le greffon, les dépôts de C4d, n'auraient ainsi de valeur pronostique péjorative qu'en association avec les autres critères morphologiques, sérologiques et cliniques de rejet humoral.

On peut s'interroger sur la spécificité de la relation entre les dépôts de C4d dans les capillaires péritubulaires et les alloanticorps dirigés contre les antigènes du donneur.

Tout d'abord, les dépôts de C4d, bien qu'établissant une liaison covalente avec l'endothélium, ne sont pas constants. Il ne sont pas le signe le plus précoce de l'alloimmunité humorale d'une part, et sont susceptibles de disparaître sur les prélèvements histologiques ultérieurs, notamment en cas de traitement.

Ceci est parfaitement illustré dans notre série nancéenne, notamment pour le patient n°4 : celui-ci, présentait des dépôts de C4d significatifs sur la seconde biopsie (à J579) de son greffon, et avait déjà à J64, sur une première biopsie, des capillaires péritubulaires assez

dilatés, engorgés de cellules inflammatoires.

Les dépôts de C4d sont en outre l'objet d'un « turn-over » : les patients n°2 et 4, eurent des prélèvements histologiques ultérieurs aux biopsies C4d positives. Pour la patiente n°2, les dépôts de C4d ne sont plus observés sur la troisième biopsie à J74, en revanche les stigmates de l'alloimmunité humorale persistaient sous la forme de thrombi intracapillaire et de nécrose fibrinoïde de paroi artériolaire. Le C4d n'avait pas été recherché sur la pièce de transplantectomie. Le patient n°4 ne retrouvait pas non plus de dépôts de C4d dans les capillaires péri-tubulaires sur la pièce de transplantectomie en immunofluorescence, laquelle présentait en sus des lésions de rejet aigu terminal.

Pour certains auteurs, les modifications des dépôts de C4d seraient liées à l'évolution des taux d'alloanticorps dirigés contre les antigènes du donneur. Ainsi, dans un article publié en 2003 (73), M. Abe étudiait les cinétiques respectives des dépôts de C4d et d'alloanticorps anti-HLA et anti-ABO dans les cas de transplantations ABO compatibles d'une part et ABO incompatibles d'autre part. Cette étude portait sur 41 receveurs transplantés entre 1991 et 2000, ayant présenté une dysfonction de leur greffon en phase initiale de greffe, attribuée à un rejet humoral. Ces patients avaient été subdivisés en quatre groupes selon qu'il s'agit d'une transplantation ABO compatible ou non, et qu'ils aient récupéré ou non.

Il constatait tout d'abord que les dépôts de C4d étaient plus importants dans le groupe ABO incompatibles que dans le groupe ABO compatibles suggérant que les anticorps anti-A et anti-B sont plus étroitement liés aux dépôts de C4d que les autres alloanticorps. Il remarquait ensuite, qu'après traitement, en cas de récupération de la fonction du greffon au décours de l'épisode de rejet aigu humoral, les dépôts de C4d se maintenaient ou régresaient, concomitamment à la réduction du taux d'alloanticorps. La présente étude montre donc, que les dépôts de C4d sont corrélés au taux d'anticorps anti-HLA chez les receveurs ABO compatibles et au taux d'anticorps anti-A/B chez les receveurs ABO incompatibles et ont par ce biais un impact sur la survie du greffon. L'auteur observait par ailleurs que les échanges plasmatiques permettaient d'abaisser le taux d'anticorps anti-HLA ou d'anticorps anti-A/B dans différentes situations, mais la durée de vie des greffons était tout de même réduite chez de tels patients du fait de la réémergence des alloanticorps.

Dans ce même ordre d'idée, on peut citer une observation de T.Shimizu, publiée en 2002 concernant cette cinétique des dépôts de C4d (74). Il s'agissait d'une femme de 61 ans en insuffisance rénale terminale sur néphropathie à IgA est transplantée d'un greffon rénal provenant de son mari, 64ans, père de ses deux enfants. Le donneur était de groupe sanguin A, la receveuse était de groupe sanguin AB ; les deux avaient un rhésus positif. Les crossmatch B et T étaient négatifs avant transplantation. Il se plaçait donc en situation de greffe ABO compatible ; aucune information ne nous était communiquée concernant les différentes techniques de crossmatch utilisées.

Le traitement immunosuppresseur consistait en tacrolimus, mycophénolate mofetil, méthylprednisolone, et SAL.

La reprise de fonction est immédiate. A J9, elle développe un épisode de rejet aigu humoral, confirmait en histopathologie par la présence d'une glomérulite et d'une capillarite à polynucléaires neutrophiles en microscopie optique et des dépôts de C4d en immunofluorescence ; et en sérologie par la positivité du crossmatch vis-à-vis des lymphocytes B et T du donneur à J13, conduisant à l'instauration d'échanges plasmatiques. Les échanges seront interrompus après négativation du crossmatch. Sur une seconde biopsie réalisée en raison de la suspicion de poursuite du rejet humoral, il persistait des stigmates morphologiques de l'alloimmunité humorale, avec cependant une régression des dépôts de C4d dans les capillaires péri-tubulaires, lesquels disparaîtront complètement sur une biopsie

protocolaire effectuée à J72, à distance d'une seconde série d'échanges plasmatiques. D'autres publications, notamment celle de H. Koller en 2004 (75) et concernant trois patients traités par immunoadsorption en raison d'un rejet humoral, allaient en ce sens.

Cette observation de T. Shimizu, est illustrée par l'évolution de nos deux patients C4d positifs ayant nécessité une transplantectomie. Elle souligne également l'importance que l'on doit accorder aux stigmates morphologiques de l'alloimmunité humorale : ces derniers peuvent persister, en dépit de la diminution des dépôts de C4d, et signent ici la persistance du rejet. Ce constat offre un éclairage intéressant sur l'évolution peu satisfaisante, en terme de fonction du greffon, de la patiente n°6, laquelle présentait un aspect histologique similaire sur ces 3, en l'absence de dépôts de C4d. Ceci justifie, *a posteriori*, les relectures rétrospectives des différentes biopsies de nos patients nancéens, C4d positifs d'une part, et ayant développé une immunisation significative d'autre part, à la recherche de tels stigmates.

Une différence notable est néanmoins à souligner, entre notre série, et les publications de T. Shimizu et H. Koller : aucuns de nos patients n'avaient reçu de traitement spécifiques du rejet humoral pouvant expliquer une disparition de C4d, sauf à considérer que les thymoglobulines sont un traitement du rejet humoral, lesquelles n'avaient instituées, que dans certains cas d'endothélite artérielle.

Les doutes concernant la validité des dépôts diffus de C4d en tant que critère pathognomonique de rejet à médiation humorale sont également suscités par des travaux concernant la signification des présentations focalisées du C4d, et l'existence de dépôts, périrubulaires, observés lors de biopsies protocolaires de greffons rénaux, en l'absence de dysfonction.

Dans notre série, nous avons exclusivement pris en compte les biopsies de patients avec dépôts de C4d intéressants plus de 50% des capillaires périrubulaires. Pour certains auteurs, (76) les dépôts focaux de C4d devraient également être pris en compte. A. B. Magil constatait ainsi que les greffons avec dépôts focalisés de C4d dans les capillaires périrubulaires avaient un pronostic globalement similaire à ceux comportant des dépôts diffus, que leur association avec la capillarite et la glomérulite à polynucléaires neutrophiles était moins étroites, mais qu'ils pouvaient également liés à la détection d'alloanticorps anti-HLA de classe 2.

Concernant les dépôts de C4d infra-cliniques, ceux-ci ont pu être mis en évidence lors de différentes études se basant sur des biopsies protocolaires. Dans une publication de datant de 2004, D.H.Koo, retrouvait de tels dépôts dans 33% des cas de biopsies C4d positives. Il s'agissait toutefois d'une série limitée portant sur 48 biopsies dont 6 C4d positives. (77). A. J.Howie (78), remettait également en cause la nécessité d'une recherche systématique des dépôts de C4d lors de biopsies de greffons. Dans une méta-analyse de différentes études comparant l'évolution des greffons avec biopsies C4d positives, d'une part et C4d négatives d'autre part. il citait notamment une large série portant sur plus de 1000 biopsies réalisées à l'occasion de suspicion de rejet, et sur lesquelles avaient été recherchées de façon rétrospectives des dépôts de C4d dans les capillaires périrubulaires. Les patients n'avaient donc pas été traités de manière agressive. On observait une évolution globalement similaire indépendamment de la présence de dépôts. En revanche, ces dépôts ne semblaient pas avoir la même signification en situation de transplantation ABO incompatibles ou chez les patients recevant leur deuxième ou troisième greffon. Dans ce dernier cas, il pourrait même avoir un effet bénéfique.

Compte tenu des limites, évoquées plus haut, des dépôts de C4d dans les capillaires pérítubulaires en tant que stigmate histologique du rejet à médiation humorale, d'autres marqueurs ont été recherchés.

On peut ainsi citer l'expression plaquettaire de CD61, en tant que marqueur histologique de l'agrégation plaquettaire dans les capillaires glomérulaires des greffons rénaux (79). L'intégrine alpha2b bêta3 est exprimée à la surface externe des membranes plaquettaires et sur les granules cytoplasmiques. CD61 est un építope de la chaîne bêta3 de l'intégrine, et est détectable par immunohistochimie sur les tissus inclus dans du formol.

Les observations morphologiques en transplantation humaine et animale ont mise en évidence des plaquettes dans les capillaires glomérulaires et tubulaires en phase précoce de rejet hyperaigu médié par des anticorps anti-donneur préformés, avant que des lésions endothéliales significatives ne soient observées. Une expression diffuse de CD61 dans les capillaires glomérulaires et pérítubulaires de pièce de néphrectomie d'allogreffé a ainsi pu être identifiée par certains auteurs. L'accumulation de CD61 est cependant peu spécifique, puisque dans une étude présentée par Mehaan en 2003, ils étaient retrouvés dans 53,3% des biopsies de greffons sièges de rejets humoraux mais aussi sur 30,4% des biopsies sièges d'un rejet cellulaire. En effet, l'activation plaquettaire, dont l'accumulation de CD61 est une conséquence, peut être induite par des lésions vasculaires de causes diverses.

A la lumière de toutes ces données, on observe que la fréquence du rejet humoral est moindre dans notre série, par rapport aux données de la littérature. Il est possible qu'il y ait un sous diagnostic, du fait de l'absence de recherche systématique de C4d, en immunofluorescence notamment.

Toutefois, ce paramètre, considéré comme quasi pathognomonique du rejet humoral, doit être interprété avec prudence. La cinétique de la présence de ce marqueur sur des biopsies itératives, ne semble ici pas influencer par le traitement. Ce qui en fait donc également un marqueur pronostic évolutif discutable.

Quoiqu'il en soit, il est clair que la mise en jeu de l'immunité humorale, dont témoignent les autres lésions histologiques que nous avons décrites, associées à la présence de dépôts de C4d dans les capillaires pérítubulaires, et surtout à la détection d'alloanticorps spécifiques du donneur ou non (notamment en ELISA), péjore le pronostic du greffon

Il semble difficile à l'heure actuelle de se passer d'une étude histologique en immunofluorescence, devant une suspicion de rejet, en particulier, si le patient est immunisé même faiblement. Cette recherche, si elle est positive, doit peut-être reconsidérer l'analyse, en microscopie optique, des biopsies de greffon, à la recherche de tout éventuel stigmate de l'alloimmunité humorale. Elle doit surtout, nous inciter à activer la recherche d'anticorps circulants, par les différentes techniques disponibles. La réalisation d'un crossmatch rétrospectif pourrait dans certains cas, compléter ces données.

Les techniques d'élutions à partir de prélèvements histologiques, seraient également une solution séduisante, du moins au plan théorique, pour faire la preuve d'un rejet humoral en l'absence d'anticorps spécifiques. Elles sont cependant difficile à mettre en œuvre sur des fragments biopsiques. Elles devraient de ce fait être systématiquement réalisées en cas de transplantectomie.

Enfin, un dernier point important reste à souligner : il s'agit du suivi des anticorps anti-HLA. Celui-ci doit être aussi régulier avant qu'après transplantation. Reste, toutefois, si leur apparition, doit faire opter pour une attitude thérapeutique particulière, lorsque l'on sait que la positivité du C4d sur des biopsies systématiques protocolaires, n'entraîne aucun traitement spécifique.



## IV. CONCLUSION

Nous avons tenté, par ce travail de souligner l'intérêt d'une optimisation de nos stratégies diagnostiques du rejet humoral. Cet objectif, nécessite en effet une coordination pluridisciplinaire, entre cliniciens, anatomopathologistes et immunologistes.

Compte tenu des progrès des différentes thérapeutiques, ciblant l'immunité cellulaire, le contrôle de l'immunité humorale est très certainement l'un des principaux obstacle qu'il nous restera à franchir dans l'avenir en transplantation clinique, notamment du fait, du nombre important de patients immunisés, en attente de transplantation d'organes. Les traitements, ciblant l'immunité humorale, dont nous disposons à ce jour, présentent en outre une efficacité limitée.

Les progrès diagnostiques, devront donc aller de paire avec les progrès thérapeutiques.

## V. ANNEXE 1

### **Technique de détection des dépôts de C4d sur les biopsies de greffons rénaux au laboratoire d'anatomo-pathologie du CHU de Nancy**

Les fragments biopsiés sont tout d'abord coupés au cryostat, l'objectif étant d'obtenir des lames d'une épaisseur de 3 microns. Trois lames seront sélectionnées : une pour la technique et deux en réserve au congélateur.

Elles subiront un premier rinçage de 10 minutes par une solution PBS.

Les lames seront ensuite mise en présence d'un anticorps monoclonal anti-C4d dilué au centième dans une solution de PBS, et seront conservées trente minutes à l'abri de la lumière.

Après un second rinçage rapide par du PBS, un second anticorps de souris, dirigé contre les immunoglobulines humaines et couplé à la fluoroscéine, est additionné à la préparation, là aussi après dilution au trentième dans du PBS. L'ensemble étant conservé durant trente minutes à l'abri de la lumière.

Enfin, suite à un ultime rinçage, s'effectue une opération dite de « montage pour immunofluorescence »

## **VI. ANNEXE 2**

### **Critères de validité des prélèvements histologiques.**

Les fragments biopsiques, pour être significatifs et conformes aux critères de la classification de Banff révisée depuis 1999, doivent impérativement intéresser, au moins partiellement, le cortex, et doivent comporter au moins 10 glomérules et au moins deux sections artérielles. Un échantillon, considéré comme limite, devant comprendre au moins 7 glomérules et une section artérielle.

Il est également recommandé d'obtenir deux fragments différents séparés, contenant chacun une zone corticale. Les coupes doivent être de 3 à 4 microns d'épaisseur.

#### **Préparation des échantillons :**

Les colorations trichrome et argentique permettent le diagnostic de glomérulite, de tubulite, de lésion de la membrane basale tubulaire. Ces colorations permettent également d'amorcer le diagnostic de lésions chroniques telles que les dépôts hyalins artériolaires, l'augmentation de la matrice mésangiale, la duplication de la membrane basale des capillaires glomérulaires, l'amincissement de la membrane basale tubulaire. La coloration trichrome est également intéressante pour déterminer la fibrose interstitielle.

## VII. ANNEXE III

### Stades de l'insuffisance rénale chronique selon l'H.A.S.

<b>Stade</b>	<b>Clairance de la créatinine entre ml/mn</b>
<b>1</b>	90-60
<b>2</b>	60-30
<b>3</b>	30-15
<b>4</b>	<15

## VIII. BIBLIOGRAPHIE

1. H.E.Feucht

Significance of donor-specific antibodies in acute rejection

*Transplant Proceedings*, 37,3693-3694 (2005)

2. N.Dujovny, Anncy Varghese, Jikun Shen, Denping Yin, Shaoquan Ji, Lianli Ma, Alison Finnegan and Anita S. Chong

Acute xenograft rejection mediated by antibodies produced independently of Th1/Th2 Cytokine Profiles

*American Journal of Transplantation*; 2;6, 526 (2002)

3. Steven K. Takemoto, A. Zeevi, S. Feng, R.B. Colvin, S.Jordan, J. Kobashigawa, J. Kupiec-Weglinski, A.Matas, R.A. Montgomery, P.Nickerson, J.L.Platt, H.Rabb, R. Thistlewaite, Doly Tyan, F.L. Delmonico.

National conference to assess antibody-mediated rejection in solid organ transplantation

*American Journal of Transplantation*; 2004; 4:1033-1041

4. Cynthia C. Nast; Arthur H Cohen

Pathology of kidney transplantation

*Handbook for transplantation*

5. Renaud Snanoudj, Séverine Beaudreuil, Nadia Arzouk, Hélène de Preneuf, Antoine Durrbach, Bernard Charpentier

Immunological strategies targeting B cells in organ grafting

*Transplantation vol 79, S33-S35, No3, February 15, 2005.*

6. L.C.Racusen

The Banff 97 working classification of renal allograft pathology

*Kidney International* 1999

7. S.Mauyyedi, M.Crespo, A.B.Collins, E.E.Schneeberg, M.A.Pascual, S.L.Saidman, N.E.Tolkoff-Rubin, W.W.Williams, F.Delmonico, A.B.Cosimi, R.B.Colvin

Acute humoral rejection in kidney transplantation: II

Morphology, immunopathology, pathologic classification.

*Journal of the American society of nephrology* 13:779-787, 2002

8. K.Renaudin

Diagnostic anatomopathologique du rejet humoral d'allogreffe

*Courrier de la transplantation vol IV-n°4 ; 187-191 (2004)*

9. B.Watschinger, M.Pascual  
Capillary C4d Deposition as a marker of humoral immunity in renal allograft rejection  
*Journal of the American society of nephrology* 13:2420-2423, 2002
10. H.E.Feucht  
Complement C4d in graft capillaries-The missing link in the recognition of humoral alloreactivity  
*American journal of transplantation* 2003;3:646-652
11. J.M.Cecka, E.F.Reed  
Histocompatibility testing, crossmatching, and allocation of kidney transplant  
*In Handbook for transplantation*
12. U.H. von Adrian, M.D.,Ph.D.; C.R.Mackay,PhD  
T-cell function and migration, two sides of the same coin  
*The new England journal of medicine*  
October 5, 2000
13. L.C.Racusen  
Antibody-mediated rejection in the kidney  
*Transplant proceedings* 2004
14. Qiuheng Zhang, L.W.Liang, D.W.Gjertson, C.Lassman, A.H.Wilkinson, E.Kendrick, P-T T. Pham, G.M. Danovitch, H.A.Gritsch, E.F. Reed  
Development of posttransplant antidonor HLA antibodies is associated with acute humoral rejection and early graft dysfunction.  
*Transplantation*;79:591-598
15. Irene Park and P.Terasaki  
Origin of the first HLA specificities  
*Human Immunology* 61, 185-189 (2000)
16. Attapong Vongwitana, Adis Tasanarong, Luis G. Hidalgo, Philip F. Halloran  
The role of B cells and alloantibody in the host response to human organ allografts  
*Immunological Review* 2003,vol196:197-218.
17. T.S. Gourley, Wherry EJ, Masopust D., Ahmed R.,  
Generation and maintenance of immunological memory  
*Seminar in Immunology* 2004 Oct; 16 (5)323-333

18. P. Terasaki, J. Cai

Humoral theory of transplantation: further evidence  
*Current Opinion in Immunology* 2005, 17:541-545

19. Terasaki, J. Cai

Humoral theory of transplantation: mechanism, prevention and treatment,  
*Human Immunology* 66, 334-342 (2005)

20. J.Klein, Ph.D., Akie Sato, PhD.

The HLA system, first of two parts  
*New England Journal of Medicine*, 2003 Sept 7 vol 343, No10: 702-9

21. J.Klein, Ph.D., Akie Sato, PhD.

The HLA system, second of two parts  
*New England Journal of Medicine*, 2003 Sept 14 vol 343, No11: 782-6

22. J.P. Revillard

*Immunologie*, 4ème edition 2001

23. P.Stastny

Introduction: MICA/MICB in innate immunity, adaptative immunity, autoimmunity,  
cancer, and in the immune response to the transplant  
*Human Immunology* 67, 141-144(2006)

24. Yizhou Zhou, Han M., Wang Z., Stastny P.

MICA allele level typing by sequence-based typing with computerized assignment of  
polymorphic sites and short tandem repeats within the transmembrane region  
*Human Immunology* 67, 145-151(2006)

25. Yang Zhang, P. Stastny

MICA antigens stimulate T cell proliferation and cell mediated cytotoxicity  
*Human Immunology* 67, 215-222 (2006)

26. Yizhou Zou; Fariba Mirbaha, Peter Stastny

Contact inhibition causes strong downregulation of expression of MICA in human  
fibroblasts and decreased NK cell killing.  
*Human Immunology* 67,183-187 (2006)

27. Yizhou Zou, Falko M. Heinmann, Hans Gross-Wilde, Guido Sireci, Zhengnan Wang,  
Bhavna Lavingia, Peter Stastny

Detection of anti-MICA antibodies in patients awaiting kidney transplantation, during the  
post-transplant course and in eluates from rejected kidney allografts by luminex flow

cytometry.

*Human Immunology* 67,230-237 (2006)

28. D.Dragun, Muller DN, Brasen JH; Fristche L., Niemine-Kehla M., Dechend R., Kintscher U., Rudolph B., Hoebeke J., Eckert D., Mazak I., Plehm R., Schonemann C, Unger T, Budde K., Neumayer H.H., Luft FC, Wallukat G..

Angiotensin 2 type 1-receptor activating antibodies in renal allograft rejection.

*New England Journal of Medecine* 2005 Feb 10; 352(6): 558-69.

29. Ingelfinger JR,

Agonist autoantibodies and rejection of renal allograft

*New England Journal of Medecine* 2005 Feb 10; 352(6): 617-9

30. Trpkov K., Campbell P., Pazderka F., Cockfield S., Solez K., Halloran PF,

Pathologic features of acute renal allograft rejection associated with donor-specific antibody

*Transplantation*, 1996 Jun 15; 61(11): 1586-92.

31. M.J. Walport, Ph. D., FRCP

Complement, first of two parts

*New England Journal of Medecine* 2001 Apr. 5; 344(14): 1058-66

32. M.J. Walport, Ph. D., FRCP

Complement, second of two part

*New England Journal of Medecine* 2001 Apr. 12; 344(15): 1140-4

33. Agence française de biomedicine

Procédures d'application des règles d'attribution des greffons prélevées sur personne décédée. Application de l'arrêté 6 novembre 1996, modifié par les arrêtés du 30 août 2002 et 2 juin 2004.

34. S. Sumitra-Holgersson

HLA-specific alloantibodies and renal graft outcome

*Nephrology Dialyse Transplantation*(2001)16:897-904

35. Abdul K. Abbas

Transplant Immunology

*Cellular and molecular Immunology*; fifth edition

36. Donna P. Lucas, Millie L. Papanounis, L.Myers, J.M. Hart, Abdrea A. Zachary

Detection of HLA class 1-specific antibodies by the quickscreen enzyme linked immunosorbent assay



*Clinical and Diagnostic laboratory immunology* may 1997, vol4, No 3.

37. J.Cole, A. Worthley, J. Stoves, B. Clark

Laboratory investigations following an unexpectedly positive crossmatch result in patient awaiting renal transplantation

*Journal of Clinical Pathology* 2002; 55:627-628

38. M.C. Bittencourt

Impaired renal graft survival after a positive B-cell flow cytometry crossmatch

*Nephrology Dialyse Transplantation*

39. G.M. Danovitch

Immunosuppressive medications and protocols for kidney transplantation

*Handbook for transplantation*

40. G. Socié, E. Thervet

Les nouveaux immunosuppresseurs

*Path. Biol.* 1999, 47, n° 8, 827-835

41. G. Auray-bax, M. Andanson

Les immunosuppresseurs dans les transplantations d'organes (1ère partie)

*Lyon Pharmaceutique* 1998 ; 49 :253-66

42. G. Auray-bax, M. Andanson

Les immunosuppresseurs dans les transplantations d'organes (2<sup>e</sup> partie)

*Lyon Pharmaceutique* 1998 ; 49 : 301-11

43. Nobuji Ogawa, N.Nagashima, Shalabi A., Wtanabe T., Koyama J., Kyo S., Burdick J.S.

Measurement of mycophenolate mofetil effect in transplant recipients

*Transplantation* 2001 Aug 15; 72(3) :422-7

44. K. Renaudin

Diagnostic anatomopathologique du rejet humoral d'allogreffe

*Courrier de la Transplantation* vol IV, n°4, oct-nov-déc 2004

45. M.Haas, Lloyd E. Ratner, R.A. Montgomery

C4d staining in of perioperative renal transplant biopsies

*Transplantation* vol.74, 711-717, No5, September 15, 2002

46. Volcker Nickeleit, Matthias Zeiler, Fred Gudat, Gilbert Thiel, M.J.Mihatsch  
Detection of complement degradation product C4d in renal allografts: diagnostic and therapeutic implications  
*Journal of the American Society of Nephrology* 13: 242-251, 2002
47. H.E. Feucht, M.J.Mihatsch  
Diagnostic value of c4d in renal biopsies  
*Current opinion in Nephrology and Hypertension* 2005, 14: 592-598
48. L.C. Racusen  
antibody mediated rejection in the kidney  
*Transplantation Proceedings* 2004 Apr, 36 (3):753-4
49. S.A. Joosten, Yvo W.J. Sijpkens, Vanessa van Ham, Leendert A. Trouw, Johan van der Vlag, Bert van den Heuvel, Cees van Kooten, and Leendert C. Paul,  
Antibody response against the glomerular basement membrane protein agrine in patients with transplant glomerulopathy  
*American Journal of Transplantation* 2005; 5:383-393
50. E.D. Poggio, M. Clemente, J. Riley, M. Roddy, N.S. Greenspan, C. DeJelo, N. Najafian, M.H. Sayegh, D.E. Hrick, P.S. Heeger  
Alloreactivity in renal transplant recipients with and without chronic allograft nephropathy  
*Journal of the American Society of Nephrology* 15: 1952-1960, 2004
51. H.E. Feucht  
Complement C4d in graft capillaries-the missing link in the recognition of humoral alloreactivity  
*American Journal of Transplantation* 2003 Jun; 3 (6): 646-652.
52. Bruno Watschinger, Manuel Pascual  
Capillary C4d deposition as a marker of humoral immunity in renal allograft rejection  
*Journal of the American Society of Nephrology* 13: 2420-2423, 2002
53. H. .E. Feucht, S.R. Lederer, B.Kluth-Pepper, H. Schneeberger, E. Albert, W. Land,  
Impact of humoral alloreactivity early after transplantation on the long term survival of renal allografts  
*Kidney International*, vol.59 (2001),pp. 334-341
54. B. H. .E. Feucht, S.R. Lederer, B.Kluth-Pepper, H. Schneeberger, E. Albert, W. Land,

Impact of humoral alloreactivity on the survival of renal allografts  
*Transplantation proceedings*, 30, 1772 (1998)

55. S.Mauiyyedi, P.Della Pelle, S. Saidman, A.B. Collins, M. Pascual, N. E. Tolkoff-Rubin, W.W. Williams, A.B. Cosimi, E.E.Schneeberger, R.B. Colvin

Chronic humoral rejection: identification of antibody mediated chronic renal allograft rejection by C4d deposits in peritubular capillaries

*Journal of the American Society of Nephrology* 12: 574-582, 2001

56. L.C. Racusen, P.F. Halloran, Kim Solez

Banff 2003 meeting report: new diagnostic insights and standards

*American Journal of Transplantation* 2004 Jun; 4: 1562-1566

57. L.C. Racusen, P.F. Halloran, Kim Solez, R.B. Colvin, M.J. Mihatsch, P.M. Campbell, M.J. Cecka, J.P. Cosyns, A.J. Demtris, M.C. Fishbein, A. Fogo, P.Furness, I. W. Gibson, D. Glotz, P. Hayry, Lawrence Hunsickern, M. Kashgarian, R. Kermen, A.J.magil, R. Montgomery, K.Morozumi, Volker Nickleit, P. Randhawa, H. Regele, D. Seron, S. Seshan, S. Sund, K. Trpkov.

Antibody-mediated rejection criteria-an addition to the Banff'97 classification of renal allograft rejection

*American Journal of Transplantation* 2003, 3 4: 708-714

58. R.B. Colvin

C4dD in Liver Allografts: a sign of antibody-mediated rejection?

*American Journal of Transplantation* 2006 Jun; 4: 447-448.

59. P.P.W. luke, Velma P. Scantlebury, M.L. Jordan, C.A. Vivas, T.R.Hakala, A. Jain, A. Somani, S.Fedorek, P. Randhawa, R.Shapiro

Reversal of steroid- and anti-lymphocyte antibody-resistant rejection using intravenous immunoglobulin (IVIg) in renal transplant recipients

*Transplantation* vol.72, 419-422, No. 3, August 15, 2001

60. SC Jordan, Vo A.A., Tyan D., Nast C.C., Toyoda M.,

Post-transplant therapy with high dose intravenous gammaglobulin: applications to the treatment of antibody rejection

*Pediatric Transplantation* 2005, Jun. 9 (3): 408-415

61. D. Glotz, C. Antoine, A. Duboust,

Antidonor antibodies and transplantation: how to deal with them before and after transplantation

*Transplantation* vol.79, 530-532, No. 3, February 15, 2005

62. G.A. Böhmgig, H. Regele, M. Exner, V. Derhartunian, J. Kletzmayer, M.D. Säemann, W.H. Hörl, WX. Drumil, B. Watschinger

C4d-positive acute humoral renal allograft rejection: effective treatment by immunoadsorption

*Journal of the American Society of Nephrology* 12: 2482-2489, 2001

63. A.Shah, T. Nadasdy, Lois Arend, J. Brennan, N. Leong, M. Coppage, M. Orloff, R. Demme, M.S. Zand

Treatment of C4d-positive acute humoral rejection with plasmapheresis and rabbit polyclonal anti-thymocyte globulin

*Transplantation* vol.77, 1399-1405, No. 9, May 15, 2004

64. R.A. Montgomery, A.A. Zachary, L.C. Racusen, M.S. Lefell, K.E. King, J.Burdick, Warren R. Maley, L.E. Ratner

Plasmapheresis and intravenous immune globulin provides effective rescue therapy for refractory humoral rejection and allows kidneys to be successfully transplanted into cross-match-positive recipients

*Transplantation* vol.70, 887-895, No. 6, September 27, 2000

65. Y.T. Becker, B.N. Becker, J.D. Pirsch, H.W. Sollinger,  
Rituximab as treatment for refractory kidney transplant rejection

*American Journal of Transplantation* 2004, 4: 996-1001

66. M. Crespo, M. Pascual, N. Tolkoff-Rubin, S.Mauyyedi, A.B. Collins, D. Fitzpatrick, M.L.Farrell, W.W. Williams, F.L. Domenico, A.B. Cosimi, R.B. Colvin, S.L. Saidman

Acute humoral rejection in renal allograft recipients: 1. incidence, serology, and clinical characteristics

*Transplantation* vol.71 (5), 652-658, 2001

67. R.A. Montgomery,

Consensus opinion from the antibody working group on the diagnosed, reporting, and risk assessment for antibody-mediated rejection and desensitization protocols.

*Transplantation* vol.78 (2), 181-5.

68. P.N. Rocha, Butterly D.W., Greenberg A., Reedan D.N., Tuttle-Newhall J., Collins B.H., Kuo PC, Reinsmoen N., Fields T., Howel D.N., Smith SR.

Beneficial effect of plasmapheresis and intravenous immunoglobulin on renal allograft survival of patients with acute humoral rejection

*Transplantation* vol.75 (9) may 15, 1490-5 2003

69. M. Karpinski, D. Rush, J. Jeffery, M. Exner, H. Regele, S. Dancea, D. Pochinco, P. Birk, P. Nickerson

Flow cytometric crossmatch in primary renal transplant recipients with a negative anti-human globulin enhanced cytotoxicity crossmatch

*Journal of the American Society of Nephrology* 12: 2807-2814, 2001

70. M. Hourmant, A. Cesbron-Gautier, P.I. Terasaki, K. Mizutani, A. Moreau, A. Meurette, J. Dantal, M. Giral, G. Blancho, D. Cantarovitch, G. Karam, G. Follea, J-P Soulillou, J-D Bignon

Frequency and clinical implications of development of donor-specific and non donor specific HLA antibodies after kidney transplantation

*Journal of the American Society of Nephrology* 16: 2804-2812, 2005

71. S.R. Lederer, H. Schneeberger, E. Albert, J. P. Johnson, R. Gruber, W. Land, K. Burhardt, G. Hillebrand, H. E. Feucht

Early renal graft dysfunction, the role of preformed antibodies to DR-typed lymphoblastoid cell lines

*Transplantation* vol.61 (2) January 27, 313-319 1996

72. Y. Zou, Heinemann FM, Grosswilde H., Sireci G., Wang Z., Lavingia B., Stasny P.

Detection of anti-MICA antibodies during the post-transplant course, and eluates from rejected kidney allografts by luminex flow cytometry

*Human Immunology* 67, 230-237 (2006)

73. M. Abe, Sawade T., Horita S., Toma H., Yamaguchi Y., Teraoka S.

C4d deposition in peritubular capillary and alloantibody in the allograft kidney suffering severe acute rejection.

*Clinical transplantation* 2003; 17 suppl 10: 14-9

74. T. Shimizu, Tokiwa M., Yamaguchi Y.,

A case of acute antidonor antibody mediated humoral rejection after renal transplantation with specific consideration of serial graft biopsy histology

*Clinical transplantation* 2002; 16 suppl 8: 62-7

75. H. Koller, Wolfgang Steurer, W. Mark, R. Margreiter, K. Lhotta, G. Mayer, A. R. Rosenkranz.

Clearance of C4d deposition after successful treatment of acute humoral rejection in follow-up biopsies: a report of three cases

*Transplant. Int.* (2004) 17: 177-181

76. A.B. Magil, K.J. Tinckam,

Focal peritubular capillary C4d deposition in acute rejection

*Nephrology Dialyse Transplantation* (2006) 21: 1382-1388

77. D.D.H. Koo , I.S. D. Roberts, I.Quioroga, J. Procter, M.C.N. M. Barnardo, M. Sutton,  
L. Cerundolo, D. R. Davies, P.J. Friend, P. J. Morris, S. V. Fuggle

C4d deposition in early renal allograft biopsies

*Transplantation* vol.78, No 3, Aug. 15, 2004

78. A. J. Howie

The association among C4d staining in renal transplant biopsies, the production of donor-specific HLA antibodies, and graft outcome.

*Transplantation* vol.83, No 4, February 27, 2007

79. S. M. Meehan, Limsrichamerns S., Manaligod JR, Junsato T., Josephson MA,  
Thistlwaite JR, Haas M.

Platelets and capillary injury in acute humoral rejection of renal allografts

*Human Pathology* 2003, Jun; 34 (6): 533-540

VU

NANCY, le 4 avril 2007

Le Président de Thèse

NANCY, le 5 avril 2007

Le Doyen de la Faculté de Médecine

Par délégation

Mme le Professeur **M. KESSLER**

Professeur **H. COUDANE**

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE

NANCY, le 6 avril 2007

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ Henri Poincaré, NANCY 1

Professeur **J.P. FINANCE**

---

## RESUME DE THESE

Le rejet humoral en transplantation d'organe, est un concept ancien, mais exploré de façon relativement récente. Il résulte de l'action d'anticorps spécifiques du donneur sur le greffon, et altère le pronostic à court terme mais aussi à long terme de l'organe transplanté. En greffe rénale, l'avènement du C4d, fraction du complément se liant de façon covalente à l'endothélium des capillaires péri-tubulaires, suite à l'interaction de ce dernier avec les alloanticorps, permet des progrès significatifs en matière de diagnostic du rejet, médié par les anticorps, aigu ou chronique. Il fut même considéré, au départ, par certains auteurs comme pathognomonique de l'implication de l'alloimmunité humorale en cas de dysfonction du greffon. Dans une étude rétrospective, nous avons tenté de déterminer l'incidence du rejet humoral au sein d'une population de patients transplantés entre le 1<sup>er</sup> décembre 2003 et le 31 mai 2005. Nous nous sommes tout particulièrement intéressés à l'évolution spontanée des patients ayant présenté des dépôts significatifs de C4d, sur une de leurs biopsies, mais aussi à ceux ayant développé une immunisation significative spécifique ou non dans les suites de leur transplantation. Dans les deux cas, ils devaient avoir présenté, un ou plusieurs épisodes de rejets. Une population de trente patients a ainsi pu être étudiée. Après analyse de leur évolution clinique, histologique et immunohistochimique, quatorze d'entre eux ont pu être identifiés, comme suspects d'avoir développé un rejet humoral. Cette étude, portant sur une série limitée de cas, nous apporte, cependant plusieurs enseignements. Tout d'abord, notre incidence d'épisodes de rejet humoral, serait plus faible que dans la littérature, 13,6% des épisodes de rejet contre 20 à 30%. Ceci résulte probablement d'un sous diagnostic, devant nous inciter à optimiser notre stratégie de détection des alloanticorps anti-HLA, du C4d et des signes histologiques. Enfin, le caractère pathognomonique du C4d semble en question au regard des évolutions de ces quatorze patients.

---

## TITRE EN ANGLAIS

HUMORAL REJECTION IN RENAL TRANSPLANTION IN NANCY

1<sup>st</sup> of December 2003 – 31 of May 2005

---

THESE : MEDECINE SPECIALISEE – 2007

---

## MOTS CLES

- Rejet humoral
  - Anticorps spécifiques du donneur
  - Dépôts de C4d
- 

## INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR

Faculté de médecine de Nancy

9, avenue de la Forêt de Haye

54505 VANDOEUVRE LES NANCY Cedex