

Pathologie du greffon rénal

Laure-Hélène Noël
Hôpital Necker
Paris

Causes des dysfonctions du transplant évaluées par la biopsie rénale

- Rejet
 - Hyperaigu
 - Vasculaire accéléré
 - aigu
 - chronique
- Nécrose tubulaire post-opératoire
- Conséquences de la réanimation et de la conservation
- Toxicité médicamenteuse
 - Ciclosporine
 - FK 506
- Récidive de la maladie initiale
- Glomérulonéphrite de novo
- Infections virales
- Maladie lympho-proliférative

CLASSIFICATION de BANFF

THE BANFF 97 WORKING : CLASSIFICATION OF RENAL ALLOGRAFT PATHOLOGY

KIDNEY INT 55: 713-723, 1999

Banff 97 : Prélèvement adequate

Non satisfaisant :

absence de glomérules et de vaisseaux

Limite :

1-9 glomérules, 1 artère

Adéquate:

10 glomérules et plus, 2 artères ou plus

Regarder au minimum 7 lames: trichrome, HES, PAS, Ag

Antibody-Mediated rejection Criteria An addition to the Banff '97 Classification of Renal Allograft Rejection

Racusen LC...:American Journal of transplantation
2003;3,708-714

BANFF 97: SCORE des LESIONS

- g : glomérulite
- i : inflammation interstitielle
- t : tubulite
- v : artérite intimale
- cg : glomerulopathie d'allogreffe
- ci : fibrose interstitielle
- ct : atrophie tubulaire
- cv : épaissement fibreux intimal des artères
- ah : épaissement hyalin des artérioles
- mm: élargissement des tiges mésangiales

Classification de Banff

- Rein normal
- **Rejet médié par des anticorps (rejet humoral)**
- Rejet minime-Rejet suspecté
- Rejet aigu cellulaire : rejet médié par les lymphocytes T
 - **Grade Ia** : infiltration cellulaire significative tubulite (>4 lymphocytes/section tubulaire)
 - **Grade Ib** : infiltration cellulaire significative tubulite(>10 lymphocytes/section tubulaire)
 - **Grade IIa** : infiltration cellulaire significative artérite intinale (v1)
 - **Grade IIb** : artérite intinale sévère (>25% de la lumière vasculaire; v2)
 - **Grade III** : Artérite transmurale ou nécrose fibrinoïde de la paroi musculaire (v3)
- Néphropathie chronique du transplant
 - **Grade I** : fines travées fibreuses et atrophie tubulaire discrète
 - **Grade II** : fibrose et atrophie tubulaire modérées
 - **Grade III** : fibrose diffuse, atrophie tubulaire étendue

Classification de Banff Rejet humoral-Banff 2001

Incidence : entre 0 et 8%

Mieux reconnu

Meilleures techniques de détection des anticorps anti-donneur

Augmentation de retransplantation

Augmentation de transplantation avec incompatibilités

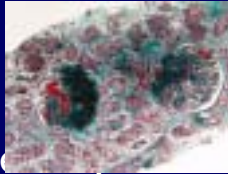
Classification de Banff Rejet humoral-Banff 2001

Vasculite sévère



Glomérulite

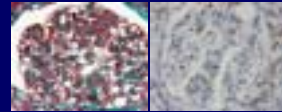
Thrombi de fibrine



Nécrose fibrinoïde

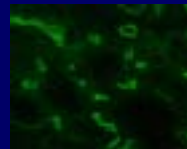
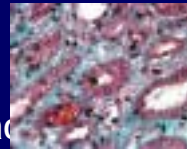
Infarctus

Neutrophiles dans les



capillaires péritubulaires : monocytes et macrophages

C4d dans capillaires péritubulaires



C4d et capillaires peritubulaires

C4d produit de dégradation du complément lors de l'activation du complément par la voie classique

Premiers travaux en 93 puis reprise en 99 Collins... J Am Soc Nephrol 10: 2208-2214, 1999

Etude en IF sur fragments congelés (126 BR; 93 patients)

C4d

independant

: des lésions histologiques, HTA, du délai de récupération de la FR, de l'âge du donneur et de la compatibilité

arguments

: rôle dans les rejets aigus d'origine humorale
: rôle prédictif sur l'évolution des transplants

C4d et capillaires peritubulaires

(398 BR; 265 patients)

Technique immunohistochimique sur coupes provenant de prélèvements congelés

C4d

30% des BR

en moy 38 j apres TR

Pas de relation avec infections,
fixation peut changer,
glomerulite

signes de rejet actif = Traitement
=amelioration du pronostic

J Am Soc Nephrol 2002 13:242-251 Suisse

C4d-Histologie-Sérologie

232 BR-67 patients avec RA

C4d présent dans 30% des BR lors d'épisodes de rejet.

	C4d+	C4d-	
PN cap pérítub	65%	9%	p<0,01
PN glomérules	55%	4%	
PN tubes	55%	9%	
Nécrose tub	75%	9%	
Nécrose glom	20%	0%	p<0,01
Nécrose vasc	25%	0%	
Tubulite	70%	100%	
Ac spe donneur(ASD)	90%	2%	p<0,001

C4d marqueur de rejet humoral aigu (Sens=95% vs sensASD=90%)

J am Soc Nephrol 2002, 13:779-787

Critères du rejet médié par AC

1 - Critère morphologiques

Lésions tubulaires aiguës **et/ou** cellules inflammatoires dans capillaires péri-tubulaires **et/ou** capillaires glomérulaires **et/ou** thromboses des capillaires **ou** artérite intimale /nécrose fibrinoïde ou inflammation transmurale des artères

2 - C4d

Capillaires péri-tubulaires **et/ou** Ig **ou** Ig et Complement dans paroi vasculaire

3 - Anticorps circulants

Anti HLA **ou** anti endothelium

Classification de Banff

- Rein normal
- Rejet médié par des anticorps (rejet humoral)
- Rejet minime-Rejet suspecté : t1, i1
- **Rejet aigu cellulaire : Rejet médié par les lymphocytes T**
 - **Grade Ia** : infiltration cellulaire significative tubulite (>4 lymphocytes/section tubulaire)
 - **Grade Ib** : infiltration cellulaire significative tubulite(>10 lymphocytes/section tubulaire)
 - **Grade IIa** : infiltration cellulaire significative artérite intimale (v1)
 - **Grade IIb** : artérite intimale sévère (>25% de la lumière vasculaire; v2)
 - **Grade III** : Artérite transmurale ou nécrose fibrinoïde de la paroi musculaire (v3)
- Néphropathie chronique du transplant
 - **Grade I** : fines travées fibreuses et atrophie tubulaire discrète
 - **Grade II** : fibrose et atrophie tubulaire modérées
 - **Grade III** : fibrose diffuse, atrophie tubulaire étendue

Banff 97 : critères quantitatifs de la glomérulite

- g0 : absence
- g1 : <25% des glomérules atteints
- g2 : 25-75% des glomérules avec inflammation segmentaire ou totale
- g3 : glomérulite (le plus souvent globale) dans >75% des glomérules

Banff 97 : Inflammation interstitielle

- i0 : absence d'inflammation ou triviale (<10% du parenchyme)
- i1 : 10- 25% du parenchyme avec inflammation
- i2 : 26- 50% du parenchyme avec inflammation
- i3 : >50% du parenchyme avec inflammation

Noter la présence d'éosinophiles, de PNN, de plasmocytes avec *i

Banff 97 : Critères quantitatifs de tubulite

- t0 : absence de cellules mononuclées dans tubes
- t1 : focale avec 1-4 cellules/section tubulaire ou pour 10 cellules tubulaires
- t2 : focale avec 5-10 cellules par section tubulaire
- t3 : focale avec >10 cellules par section tubulaire, ou au moins la présence de 2 zones avec destruction tubulaire, i2/i3 et t2 dans une autre zonz

Banff 97 : Lésions minimales de rejet

« rejet suspecté »

Cette catégorie est utilisée quand il n'existe pas d'artérite intimale, mais la présence de quelques cellules inflammatoires et une discrète tubulite (1 à 4 cellules par section tubulaire) : **i1/t1**

Banff 97 : critères quantitatifs pour l'artérite intinale

- v0 : absence d'artérite intinale
- v1 : artérite intinale discrète ou modérée dans au moins une section artérielle
- v2 : artérite sévère réduisant 25% de la fente vasculaire dans au moins une section
- v3 : nécrose fibrinoïde de la paroi et/ou une artérite transmurale

noter le nombre d'artères présentes, le nombre d'artères affectées
indiquer l'existence d'un infarctus ou d'hémorragie interstitielle
par*

Banff 97 : critères quantitatifs de la glomérulopathie d'allogreffe

- cg0 : absence de glomérulopathie, double-contours dans moins de 10% des parois capillaires périphériques dans les glomérules les plus atteints
- cg1 : double-contours dans jusqu'à 25% des capillaires périphériques dans les glomérules les plus atteints, non sclérotiques
- cg2 : double-contours dans 26-50% des parois...
- cg3 : double-contours dans >50% des parois

noter le nombre de glomérules fonctionnels et scléreux

Banff 97 : critères quantitatifs pour l'élargissement de la tige mésangiale

- mm0 : tiges mésangiales normales
- mm1 : jusqu'à 25% des glomérules non sclérotiques atteints
- mm2 : 26-50% des glomérules...
- mm3 : >50% des glomérules...

Banff 97 : Critères quantitatifs de la fibrose interstitielle

- ci0 : fibrose interstitielle dans moins de 5% du cortex rénal
- ci1 : fibrose interstitielle discrète touchant 6-25% du cortex
- ci2 : fibrose interstitielle modérée dans 26-50% du cortex
- ci3 : fibrose interstitielle sévère dans >50% du cortex

Banff 97 : critères quantitatifs de l'atrophie tubulaire

- ct0 : absence d'atrophie tubulaire
- ct1 : atrophie tubulaire touchant jusqu'à 25 % des sections du cortex
- ct2 : atrophie tubulaire touchant 26-50% des sections du cortex
- ct3 : atrophie tubulaire dans >50% des sections du cortex

Lésions vasculaires dans le rejet chronique

Artérielles

Endartérite fibreuse concentrique avec prolifération myofibroblastique, accumulation de macrophages spumeux et de cellules inflammatoires

Dg différentiel : vieillissement, HTA

Artériolaires

Capillaires péri-tubulaires

Banff 97 : critères quantitatifs de l'épaississement artériolaire hyalin

- ah0 : absence d'épaississement hyalin PAS+
- ah1 : épaississement hyalin discret à modéré PAS+ dans au moins 1 artériole
- ah2 : épaississement hyalin modéré à sévère PAS+ dans >1 artériole
- ah3 : épaississement hyalin sévère dans de nombreuses artérioles

Indiquer la présence d'une artériolite (signification inconnue) par * sur ah

Banff 97: critères quantitatifs de l'épaississement fibreux intimal

- cv0 : absence de lésions vasculaires chroniques
- cv1 : fente vasculaire rétrécie jusqu'à 25% par un épaississement fibreux intimal, ± rupture de la limitante élastique interne ou présence de cellules spumeuses ou de cellules mononuclées*
- cv2 : rétrécissement entre 26-50% de la fente vasculaire
- cv3 : lésions sévères avec >50% de rétrécissement

* dans la plupart des vaisseaux ; préciser si lésions caractéristiques de rejet chronique

Toxicité de la ciclosporine, du FK 506

- **Aiguë**
 - **Fonctionnelle** Absence d'anomalies histologiques
 - **Tubulopathie** Vacuoles intracytoplasmiques
 - **Arteriopathie** Apoptose des myocytes
- **Microangiopathie thrombotique**
- **Chronique**
 - **Lesion tubulo-interstitielles** Fibrose et atrophie tubulaire
 - **Arteriopathie** Myocytes remplacés par dépôts hyalins

IMMUNOFLUORESCENCE STANDARD

- Dépôts d'immunoglobulines tubes et glomérules
 - granuleux
 - lineaires
 - = **Récidive de la GN initiale**
 - Néphropathie "de novo"**
- Dépôts des différents facteurs du complément
 - = **non spécifique**
 - Récidive de la GN initiale**
- Dépôts de fibrine
 - = **nécrose**
 - oedème**

Récidive des glomérulonéphrites sur le greffon (Colvin, 1995)

Récidive	% récidence	% perte greffon	Nbre cas
Habituelle			
GN à dépôts denses	90%	15%	75
Fréquente			
GN à dépôts d'IgA	38%	3%	74
HSF	34%	10%	198
SHU	27%	16%	44
GNMP Type1	27%	9%	153
GEM	17%	3%	35
GN extracapillaire	15%	8%	48
Rare			
Anti MBG	5%	5%	22
Wegener	7%	0%	14
LED	5%	2%	42
Diabète	<1%	0%	>1000

Néphropathies « de novo »

3% des biopsies

Hyalinose segmentaire et focale

GN extramembraneuse

Autres : GNMP associée à l'hépatite C

MAT

Diabète ...

REJET AIGU : Lymphocytes

- Lymphocytes T
 - CD 3 +
 - CD 8 + les plus nombreuses
 - CD 4 + dans les zones peri-vasculaires
- Lymphocytes activés = **rejet**
 - IL2 et IL2 R (CD25)
 - Transferrin R
 - HLA DR/DQ
 - Ki 67
- Lymphocytes cytotoxiques
 - GMP 17 (30% des cellules)
 - Granzyme A et B (très abondant)
 - Perforine (**rejet irréversible**)
- Cytokines
 - IF (**absent si non rejet**)
 - TNF α (**++ dans rejet**)
- Apoptose
 - Cellules TUNEL +(TdT-Uridine-Nick-End Label)

REJET AIGU : Macrophages

- Marqueur spécifique
 - CD 14(leu m3) = récepteur de "Endotoxin-binding protein"
 - si > 70 % = rejet**
 - si < 40 % = non rejet**
- Marqueurs moins spécifiques
 - CD 68 (KP 1)utilisable en paraffine
 - CD 4
 - CD 11b présent sur PN, Cellules NK et Lymphocytes
- Autres marqueurs
 - Tissue Factor Procoagulant -related antigen = présence de fibrine
 - CD 49 (VLA 4) =Récepteur de VCAM1 et Fibronectine
 - GMP 17 = protéine cytotoxique des granules
 - Chemokines : MCP 1

CELLULES TUBULAIRES AU COURS DU REJET

- **Tubulite**
 - Invasion par Lymphocytes CD 4+ et CD 8+
 - Cellules cytotoxiques GMP 17 +
 - Cellules proliférantes Ki 67 (MIB1)
- **Cellules tubulaires**
 - Expression HLA DR
 - IFN γ récepteur dans TCP et TCD
 - TNF α
 - ICAM 1(CD 54), VCAM 1
 - Clusterine
 - Complexe C5b-9
 - Endothelin-1
 - Diminution expression EGF
- **Cellules apoptotiques**
 - Cellules TUNEL + : nombreuses et en rapport avec les cellules GMP 17 et Ki 67

CELLULES ENDOTHELIALES ET REJET AIGU

- **Glomérules**
 - Glomérulite
 - Augmentation de la synthèse de thromboxane
 - Augmentation d'expression des antigènes HLA classe I
- **Vaisseaux**
 - Endothélite: **Cellules T cytotoxiques**
 - TNF récepteur détectable**
 - Apoptose**
 - Surexpression de **HLA DR**
 - VCAM 1**
 - ICAM 1**
- **Capillaires péri-tubulaires**
 - Disparition du marquage HLA DR et ICAM1
 - Diminution expression endothéline

HYBRIDATION IN SITU

Principales molécules étudiées

Mise en évidence des ARN m traduisant la synthèse locale de protéines au cours du rejet

IL 6	Glomérules Tubes Cellules interstitielles
IL 8	Tubes
RANTES	Tubes
TNFα	Interstitium
Plasminogen Activator Inhibitor (PAI -1):	Interstitium
PDGF	Endothélium

RESULTATS DE LA PCR

Amplification de l'ARN messager

Résultats spécifiques pour cellules cytotoxiques

Granzyme B
Perforine
Fas
Ligand de Fas

Les mécanismes cytolytiques sont plus actifs que les mécanismes d'hypersensibilité retardée

Cytokines Th1 : présentes dans **phase aiguë du rejet**

Détection de IL 2 et IFN γ précède les signes cliniques (résultats contradictoires)

Cytokines Th2 : IL 4, IL 10 sont augmentées

Résultats avec IL 6, IL 15

Au total, résultats confus

Techniques de microarray

Profil particulier lors des rejets aigus

Adresse web : <http://genome-www5.stanford.edu>

Profil Cellules B/plasmocytes

Profil activation des lymphocytes T

ULTRASTRUCTURAL STUDY

NON INDISPENSABLE

ETUDE DES CAPILLAIRES PÉRITUBULAIRES :

ASPECT MULTILAMELLÉ CIRCONFÉRENTIEL

REJET CHRONIQUE

comparé au rejet aigu

traitement par la ciclosporine

insuffisance rénale terminale de toute cause

glomérulopathie d'allogreffe

fibrose interstitielle

Ivanyi B, ...Solez K: Hum Pathol 2000;3,1129-1138

INFECTIONS VIRALES

- **CMV**
Inclusions virales intranucléaires dans endothéliums glomérulaires et des capillaires péri-tubulaires
Détection à l'aide d'anticorps monoclonaux, par PCR et hybridation in situ
- **HHV1, HHV2, HHV6**
Surtout lésions tubulo-interstitielles
- **Adeno virus, Polyoma virus**
Lésions tubulo-interstitielles, suffusion hémorragique, inclusions
- **Hépatite C**
Glomérulonéphrite membrano-proliférative type cryo
- **Epstein-Barr virus**
Syndrome lymphoprolifératif
Lymphome B dans 86 % des cas
EBER présent dans les lymphocytes B

Biopsies systématiques à 3 mois et 24 mois 31 patient, CK, sans RA, sans IRA

	Aggravation histologique(11)		Pas d 'aggravation histologique(20)
Age donneur	39.7 ±4;9	p<0.05	28.6±2.8
Ischémie froide	22.5 ±2.3	ns	24.5±1.8
Retard reprise fonction(%)	18	ns	15
HTA(2ans)(%)	77	p<0.05	35
Csa (mg/l)	2.9±0.3	ns	3.3±0.3
Taux résiduel			
Csa (ng/ml)	170±10	p<0.05	130±13
Cl créatinine (mg/ml)(2 ans)	63±5	ns	67±7