

# Transplantation d'organes

Quelles voies  
de recherche ?

Expertise collective

Instituts  
thématiques



# Inserm



Institut national  
de la santé et de la recherche médicale

# **Transplantation d'organes**

Quelles voies  
de recherche ?

© Les éditions Inserm, 2009 101 rue de Tolbiac, 75013 Paris

Dans la même collection

- Dioxines dans l'environnement. Quels risques pour la santé ? 2000
- Hormone replacement therapy. Influence on cardiovascular risk ? 2000
- Rythmes de l'enfant. De l'horloge biologique aux rythmes scolaires. 2001
- Susceptibilités génétiques et expositions professionnelles. 2001
- Éducation pour la santé des jeunes. Démarches et méthodes. 2001
- Alcool. Effets sur la santé. 2001
- Cannabis. Quels effets sur le comportement et la santé ? 2001
- Asthme. Dépistage et prévention chez l'enfant. 2002
- Déficits visuels. Dépistage et prise en charge chez le jeune enfant. 2002
- Troubles mentaux. Dépistage et prévention chez l'enfant et l'adolescent. 2002
- Alcool. Dommages sociaux, abus et dépendance. 2003
- Hépatite C. Transmission nosocomiale. État de santé et devenir des personnes atteintes. 2003
- Santé des enfants et des adolescents, propositions pour la préserver. Expertise opérationnelle. 2003
- Tabagisme. Prise en charge chez les étudiants. 2003
- Tabac. Comprendre la dépendance pour agir. 2004
- Psychothérapie. Trois approches évaluées. 2004
- Déficiences et handicaps d'origine périnatale. Dépistage et prise en charge. 2004
- Tuberculose. Place de la vaccination dans la maladie. 2004
- Suicide. Autopsie psychologique, outil de recherche en prévention. 2005
- Cancer. Approche méthodologique du lien avec l'environnement. 2005
- Trouble des conduites chez l'enfant et l'adolescent. 2005
- Cancers. Pronostics à long terme. 2006
- Éthers de glycol. Nouvelles données toxicologiques. 2006
- Déficits auditifs. Recherches émergentes et applications chez l'enfant. 2006
- Obésité. Bilan et évaluation des programmes de prévention et de prise en charge. 2006
- La voix. Ses troubles chez les enseignants. 2006
- Dyslexie, dysorthographe, dyscalculie. Bilan des données scientifiques. 2007
- Maladie d'Alzheimer. Enjeux scientifiques, médicaux et sociétaux. 2007
- Croissance et puberté. Évolutions séculaires, facteurs environnementaux et génétiques. 2007
- Activité physique. Contextes et effets sur la santé. 2008
- Autopsie psychologique. Mise en œuvre et démarches associées. 2008
- Saturnisme. Quelles stratégies de dépistage chez l'enfant. 2008
- Jeux de hasard et d'argent. Contextes et addictions. 2008
- Cancer et environnement. 2008
- Tests génétiques. Questions scientifiques, médicales et sociétales. 2008
- Santé de l'enfant. Propositions pour un meilleur suivi. 2009



Ce logo rappelle que le code de la propriété intellectuelle du 1<sup>er</sup> juillet 1992 interdit la photocopie à usage collectif sans autorisation des ayants-droits.

Le non-respect de cette disposition met en danger l'édition, notamment scientifique.

Toute reproduction, partielle ou totale, du présent ouvrage est interdite sans autorisation de l'éditeur ou du Centre français d'exploitation du droit de copie (CFC, 20 rue des Grands-Augustins, 75006 Paris).

# Transplantation d'organes

Quelles voies  
de recherche ?

Expertise collective



Cet ouvrage présente les travaux du groupe d'experts réunis par l'Inserm dans le cadre de la procédure d'expertise collective (annexe 1), pour répondre à la demande de l'Agence de la biomédecine concernant la transplantation d'organes solides et les axes prioritaires de recherche en transplantation. Ce travail s'appuie sur les données scientifiques disponibles en date du second semestre 2008. Près de 3 000 articles ont constitué la base documentaire de cette expertise.

Le Centre d'expertise collective de l'Inserm a assuré la coordination de cette expertise collective.



## **Groupe d'experts et auteurs**

Monique BERNARD, Centre de résonance magnétique biologique et médicale (CRMBM), CNRS UMR 6612, Université de la Méditerranée, Marseille

Lucienne CHATENOU, Service Immunologie biologique, GHU-Ouest Necker-Enfants malades ; Inserm U 580, Université Paris Descartes-Paris 5, Paris

Philippe COMPAGNON, Service de chirurgie hépato-biliaire et digestive, CHU de Rennes ; Inserm U 522, Université de Rennes 1, Rennes

Maria Cristina CUTURI, Institut de transplantation et de recherche en transplantation (ITERT), Inserm UMR-S 643, Université de Nantes, Nantes

François DURAND, Service d'hépatologie et Unité de réanimation hépato-digestive, GHU-Nord Beaujon ; Inserm U 773, Université Paris Diderot-Paris 7, Paris

Antoine DURRBACH, Service de néphrologie, GHU-Sud Bicêtre ; Inserm U 542, Université Paris-Sud 11, Villejuif

Philippe GRIMBERT, Service néphrologie et transplantation, GHU-Sud Henri Mondor ; Inserm U 955, Université Paris 12 Val de Marne, Créteil

Thierry HAUET, Service de biochimie, CHU de Poitiers ; Inserm U 927, Université de Poitiers, Poitiers ; Plateforme IBiSA, Surgères

Philippe LANG, Service néphrologie et transplantation, GHU-Sud Henri Mondor ; Inserm U 955, Université Paris 12 Val de Marne, Créteil

Christophe LEGENDRE, Service de transplantation rénale adulte, GHU-Ouest Necker-Enfants malades ; Inserm U 580, Université Paris Descartes-Paris 5, Paris

Emmanuel MORELON, Service de néphrologie, médecine de transplantation et immunologie clinique, CHU de Lyon ; Inserm U 851, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon

Didier SAMUEL, Centre hépato-biliaire, GHU-Sud Paul Brousse ; Inserm UMR-S 785, Université Paris-Sud 11, Villejuif

Laurent SEBBAG, Pôle médico-chirurgical de transplantation cardiaque, CHU de Lyon ; Inserm U 886, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon

Gabriel THABUT, Service de pneumologie B et transplantation pulmonaire, GHU-Nord Bichat - Claude Bernard ; Inserm U 738, Université Paris Diderot-Paris 7, Paris



## **Ont rédigé une note de lecture**

Bernard CHARPENTIER, Service de néphrologie, dialyses, transplantation, GHU-Sud Bicêtre ; Inserm UMR-S 542, Université Paris-Sud 11, Paris

Yvon LEBRANCHU, Service de néphrologie et immunologie clinique, CHU de Tours ; EA 4245, Université François Rabelais, Tours

Jean-Paul SOULILLOU, Institut de transplantation et de recherche en transplantation (ITERT), Inserm UMR-S 643, Université de Nantes, Nantes

## **Intervenants**

Dominique DEBRAY, Service d'hépatologie pédiatrique, GHU-Sud Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre

Patrick NIAUDET et Rémi SALOMON, Service de néphrologie pédiatrique, GHU-Ouest Necker-Enfants malades, Paris

## **Coordination scientifique, éditoriale, bibliographique et logistique**

Fabienne BONNIN, attachée scientifique, Centre d'expertise collective de l'Inserm, Faculté de médecine Xavier-Bichat, Paris

Catherine CHENU, attachée scientifique, Centre d'expertise collective de l'Inserm, Faculté de médecine Xavier-Bichat, Paris

Véronique DUPREZ, chargée d'expertise, Centre d'expertise collective de l'Inserm, Faculté de médecine Xavier-Bichat, Paris

Jeanne ÉTIEMBLE, directrice, Centre d'expertise collective de l'Inserm, Faculté de médecine Xavier-Bichat, Paris

Cécile GOMIS, secrétaire, Centre d'expertise collective de l'Inserm, Faculté de médecine Xavier-Bichat, Paris

Anne-Laure PELLIER, attachée scientifique, Centre d'expertise collective de l'Inserm, Faculté de médecine Xavier-Bichat, Paris

Chantal RONDET-GRELLIER, documentaliste, Centre d'expertise collective de l'Inserm, Faculté de médecine Xavier-Bichat, Paris

## **Iconographie**

Jean-Pierre LAIGNEAU, Inserm

# Sommaire

<b>Avant-propos</b> .....	XIX
<b>Introduction générale</b> .....	1
<b>Analyse</b>	
<b>I Tolérance et rejet en transplantation</b> .....	7
1. Tolérance d'allogreffe : des modèles expérimentaux à la clinique...	9
2. Origines et mécanismes du rejet aigu et hyperaigu .....	33
3. Origines et mécanismes du rejet chronique.....	57
<b>II Immunosuppression et transplantation</b> .....	73
4. Prévention et traitement des rejets.....	75
5. Optimisation des traitements immunosuppresseurs .....	89
6. Nouveaux immunosuppresseurs.....	101
<b>III Préservation et reperfusion de l'organe greffé</b> .....	133
7. Syndrome d'ischémie/reperfusion et préservation en transplantation rénale.....	135
8. Syndrome d'ischémie/reperfusion et préservation en transplantation hépatique.....	173
9. Syndrome d'ischémie/reperfusion et préservation en transplantation cardiaque .....	239
10. Syndrome d'ischémie/reperfusion et préservation en transplantation pulmonaire .....	259
<b>IV Caractéristiques du donneur conditionnant la greffe</b> ...	275
11. Transplantation rénale : élargissement des critères de sélection des donneurs .....	277
12. Transplantation hépatique : donneurs marginaux et approches alternatives .....	301
13. Transplantation cardiaque : optimisation du pool de donneurs .....	323
14. Transplantation pulmonaire : élargissement du pool de donneurs..	335

<b>V Origine et maîtrise des complications chez le receveur d'organe</b> .....	347
15. Complications chirurgicales, infectieuses et métaboliques après transplantation d'organes .....	349
16. Néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine .....	361
17. Cancers chez les patients transplantés.....	375
<b>Synthèse et recommandations</b> .....	389
<b>Communications</b> .....	441
Transplantation rénale chez l'enfant .....	443
Transplantation hépatique chez l'enfant .....	449
<b>Annexes</b> .....	463
Expertise collective Inserm : éléments de méthode .....	465
Activation lymphocytaire T en transplantation.....	471

# Avant-propos

En 2007, plus de 275 000 européens vivent avec un organe transplanté et des milliers sont en attente d'un greffon. L'augmentation des maladies chroniques ainsi que le vieillissement de la population se traduisent par un accroissement des indications de transplantation et par conséquent des besoins en termes de greffons. Simultanément, la baisse importante de la mortalité accidentelle et de la mortalité par accident vasculaire cérébral, conduit à une diminution du nombre total de donneurs potentiels. Bien que le nombre de prélèvements soit actuellement en augmentation, il est indéniable que la situation de pénurie est installée durablement.

En France, le nombre des transplantations a augmenté de 45 % depuis l'année 2000. En 2007, près de 12 800 personnes ont eu besoin d'une transplantation d'organe et 232 patients sont décédés faute de greffon. Chaque année, le nombre de personnes inscrites en liste d'attente augmente de 4 % environ.

La France a joué un rôle important dans le domaine de la transplantation d'organes en particulier lors de la période pionnière des greffes de rein et ensuite pour ses réussites en greffes composites. Après les prouesses chirurgicales en transplantation rénale et cardiaque du début de la seconde moitié du XX<sup>e</sup> siècle, c'est le développement des premiers médicaments contrôlant les réactions immunitaires de rejet de l'organe greffé qui a marqué les années 1980. En dépit de l'avancée des connaissances sur les mécanismes cellulaires et moléculaires mis en jeu dans le rejet, la prévention du rejet reste dépendante de molécules d'immunosuppresseurs potentiellement toxiques. La période actuelle révèle surtout une évolution des pratiques avec la transplantation de personnes de plus en plus âgées en ayant recours à des greffons prélevés chez des personnes également de plus en plus âgées.

La transplantation constitue un bon exemple d'intégration en médecine de toutes les avancées en recherche fondamentale, biomédicale, clinique, technologique, épidémiologique, éthique, en sciences humaines et sociales et en santé publique. L'Agence de la biomédecine créée en 2005 à la suite de l'Établissement français des greffes (EFG) s'appuie sur ces différents champs disciplinaires pour conduire ses missions.

En 2006, l'Agence de la biomédecine a sollicité l'Inserm pour la réalisation d'une expertise collective permettant de faire le point des connaissances scientifiques, biomédicales et cliniques sur les différentes étapes de la transplantation d'organes solides et de définir, à partir de ces données, des axes prioritaires de recherche en transplantation.

Pour répondre à cette demande, l'Inserm a réuni un groupe pluridisciplinaire de 15 experts, spécialistes de différents domaines de la transplantation, de la physiologie et immunologie fondamentale et clinique. L'expertise a ciblé son champ sur la transplantation d'organes vascularisés (rein, foie, cœur, poumon) à l'exclusion de la greffe de tissus et de cellules. De ce champ déjà vaste ont été exclues les sciences humaines et sociales, les questions éthiques et socioéconomiques qui constituent des domaines d'investigation en tant que tels et/ou des missions propres de l'Agence de la biomédecine.

Le groupe d'experts a centré sa réflexion autour des questions suivantes :

- Quelles sont les connaissances actuelles sur la tolérance centrale et périphérique et leurs applications pour diminuer (ou supprimer) l'immunosuppression ?
- Quelles sont les connaissances sur les mécanismes immunologiques et non immunologiques du rejet et les facteurs entrant en jeu dans le rejet à court et long terme ?
- Quelles sont les cibles thérapeutiques potentielles pour déplacer l'équilibre tolérance-rejet en faveur de la tolérance ?
- Comment peut-on optimiser le traitement immunosuppresseur en jouant sur la dose, la biodisponibilité, la combinaison, la conversion ou le retrait des immunosuppresseurs ? Quelles sont les perspectives d'utilisation de protocoles à la carte (individuels) en fonction des différents paramètres individuels (biologiques, pharmacogénétiques) ?
- Quelles sont les connaissances sur les nouvelles voies d'immunosuppression à la recherche d'une spécificité ?
- Quelles sont les avancées scientifiques et techniques permettant de mieux contrôler la qualité du greffon ?
- Quel est l'impact du syndrome d'ischémie/reperfusion sur la qualité du greffon et le succès de la greffe ?
- Peut-on identifier des marqueurs de la défaillance du greffon ?
- Quels sont les mécanismes cellulaires et moléculaires mis en jeu au cours de l'ischémie/reperfusion ?
- Quelles sont les possibilités d'élargissement du nombre de donneurs sans mettre en péril le succès de la transplantation : donneurs vivants, donneurs en arrêt cardiaque, donneurs marginaux ?
- Quels sont les meilleurs moyens d'évaluation du donneur potentiel et quel est l'impact de cette évaluation sur la greffe ?
- Quels sont les résultats cliniques chez les patients greffés selon le type de donneurs à court et long terme ? Peut-on établir un score de risque pour le receveur ?
- Quels types de « management » du donneur permettent d'augmenter la qualité du greffon ? Quels sont les marqueurs pronostiques de la qualité de l'organe ?

- Quelles sont les connaissances actuelles sur les complications les plus fréquentes après transplantation liées à la chirurgie, aux infections, à l'immunosuppression ? Comment les limiter ?

L'essentiel de l'analyse réalisée par le groupe d'experts à partir de la littérature internationale a porté sur la transplantation chez l'adulte. Pour compléter cet état des lieux, le groupe d'experts a auditionné deux spécialistes de la transplantation hépatique et rénale chez l'enfant en France.



---

# Introduction générale

La transplantation d'organes est la seule issue thérapeutique pour beaucoup de pathologies qui entraînent une perte de fonction irréversible d'organes vitaux. Les progrès majeurs réalisés au cours des 20 dernières années ont abouti à une augmentation significative du nombre de patients pouvant avoir accès à une transplantation. De même, le nombre de retransplantations dues à des pertes de fonction du greffon, plusieurs années après une première greffe, a augmenté. Cette situation qui, pour des raisons évidentes, revêt un impact majeur en termes de santé publique, explique le besoin de faire un point objectif de la situation afin d'une part de dresser la liste des acquis et, d'autre part, de définir les axes de recherche qu'il est indispensable de développer. Le but de cette expertise est de fournir les éléments de connaissance, issus de l'expérience nationale et internationale, permettant d'aboutir à des recommandations concrètes.

Le constat que l'on peut faire aujourd'hui est que la transplantation d'organes se trouve à un carrefour très important où convergent quatre problématiques complémentaires, l'ordre dans lequel elles sont présentées ne revêt aucun aspect de priorité.

## Problématique clinique de la transplantation

Le premier aspect relève des résultats cliniques. À l'évidence, la réussite majeure que soulignent les données disponibles aujourd'hui (par rapport à celles de la fin des années 1970 et du début des années 1980) concerne la possibilité de contrôler de manière très efficace le rejet aigu d'allogreffe pour la majorité des patients. Ceci rend compte des survies extrêmement bonnes des greffons dans les trois premières années qui suivent la transplantation. Il existe certes des différences en fonction des organes, mais dans l'ensemble il s'agit d'un point très positif.

Si le rejet aigu peut être contrôlé aujourd'hui, c'est grâce au développement de très nombreux médicaments immunosuppresseurs chimiques et biologiques. Appliqués de manière chronique et en association comme il est devenu pratique courante de le faire en transplantation, ils diminuent de manière très efficace les réponses immunitaires du receveur. Cette action est cependant dénuée de spécificité pour les antigènes du greffon impliqués dans la réaction d'allogreffe, les alloantigènes. Il s'agit d'une immunosuppression



non spécifique, qui implique toutes les défenses immunitaires du receveur, y compris l'immunité anti-infectieuse et anti-tumorale. Ceci entraîne, chez les receveurs d'allogreffe, une augmentation importante de l'incidence d'infections et de tumeurs (d'ailleurs souvent induites par des infections virales mal contrôlées), sources non seulement de morbidité mais qui mettent également en jeu le pronostic vital des patients.

Enfin, il est nécessaire de souligner un autre point tout aussi important. La diminution nette de l'incidence du rejet aigu n'a pas pour autant permis d'enrayer la survenue du rejet chronique notamment en transplantations rénale et cardiaque, mettant en cause le dogme qui prévalait au début des années 1980 suivant lequel il existait une relation étroite entre la survenue du rejet aigu et chronique, dogme qui a d'ailleurs justifié la pratique d'une immunosuppression de plus en plus « lourde ». On peut donc conclure sur ce point en disant qu'une réflexion de fond s'impose : le type d'immunosuppression pratiqué aujourd'hui est-il adapté à la lutte contre la destruction chronique du greffon ?

## **Problématique épidémiologique des greffons**

Le deuxième aspect est de nature épidémiologique et concerne tout autant les receveurs que les donneurs. Aujourd'hui, les receveurs ne sont pas seulement plus nombreux que dans les années 1980 mais ils sont également plus âgés. Dans un certain nombre de cas, il s'agit de receveurs d'une deuxième allogreffe. Dans la population des receveurs, il y a donc plus de personnes à « haut risque » pour des raisons médicales générales (âge avancé, situation vasculaire...) et pour des raisons immunologiques. Dans le cas des deuxièmes greffes, les patients ont déjà été soumis à une immunosuppression chronique ou bien sont immunisés vis-à-vis des alloantigènes du premier greffon, d'où un risque de réaction croisée. Dans le cas de patients plus âgés, ils sont plus sensibles aux problèmes infectieux liés à l'immunosuppression et aux effets secondaires propres des immunosuppresseurs.

L'épidémiologie des greffons provenant de donneurs cadavériques s'est fortement modifiée ces dernières années. Un nombre important d'organes est prélevé chez des donneurs plus âgés, décédés d'accidents vasculaires cérébraux car les décès chez des sujets jeunes dus aux accidents de la voie publique ont significativement baissé.

S'ajoutent également dans ce contexte, les nouvelles pratiques de prélèvements d'organes chez des donneurs à cœur arrêté. Les greffons prélevés sur ces donneurs sont plus sensibles aux lésions d'ischémie/reperfusion et à la néphrotoxicité des immunosuppresseurs. Ils présentent déjà des lésions chroniques liées au donneur avant le prélèvement, qui réduiront d'autant leur durée de vie après la transplantation.

## Problématique immunologique des rejets

Le troisième aspect concerne l'amélioration de la connaissance, grâce aux progrès de la recherche en immunologie fondamentale de la transplantation, des mécanismes qui sous-tendent les rejets aigu et chronique d'allogreffe. Cette connaissance va de pair avec une meilleure compréhension des modes d'action des différents médicaments immunosuppresseurs qui, individuellement sont très sélectifs de certaines sous-populations de cellules immunitaires et/ou de voies de signalisation de ces cellules.

Un grand pas en avant a été franchi dans le domaine de l'immunité innée, au niveau des récepteurs qu'elle implique (en particulier, les récepteurs *Toll like*) et des cellules spécialisées, telles que les cellules dendritiques, qui constituent le lien entre les réponses immunitaires innées et adaptatives. Longtemps négligé par manque de connaissances, le rôle de l'immunité innée est aujourd'hui reconnu pour expliquer les conséquences immunologiques du syndrome d'ischémie/reperfusion.

Il est important de citer également l'intérêt tout particulier porté aux lymphocytes « mémoire », aussi bien lymphocytes T que B, ainsi qu'aux plasmocytes à longue durée de vie du fait de leur rôle chez les patients hyperimmunisés. Soulignons également à propos des lymphocytes B et des plasmocytes, le regain d'intérêt pour le suivi des anticorps anti-HLA en post-transplantation en lien avec leur rôle « amplificateur » de la progression du rejet chronique.

## Problématique de santé publique des patients transplantés

L'amélioration constatée des résultats de la transplantation pose le problème du devenir à long terme des patients. La majorité des patients ont des survies prolongées après transplantation, supérieures à 10 ans pour les transplantés rénaux et hépatiques. Bien que leur qualité de vie soit améliorée significativement par rapport à la situation en pré-transplantation, elle reste néanmoins inférieure à celle de la population générale. Par ailleurs, en dehors des complications liées au rejet chronique, les patients greffés restent exposés aux complications de l'immunosuppression et à la récurrence de la maladie initiale.

La prévention de la récurrence de la maladie initiale est un enjeu majeur. Si des progrès spectaculaires ont été effectués dans la prévention de la récurrence de l'hépatite B post-transplantation hépatique, il n'en est pas de même pour la prévention et le traitement de la récurrence de l'hépatite C.

Les complications liées aux immunosuppresseurs sont nombreuses, elles sont spécifiques de chaque immunosuppresseur et secondaires à l'immunosuppression

en général. Ainsi, il est indispensable dans le futur de diminuer la fréquence des complications rénales, cardiovasculaires et du diabète. Le développement fréquent de cancers (indépendamment de récurrences) est une autre conséquence importante de l'immunosuppression générale. Toutes ces complications soulignent l'intérêt d'une réflexion approfondie sur les conséquences à long terme de l'immunosuppression.

## Axes prioritaires de recherche

La transplantation est non seulement une discipline à part entière mais également une discipline transversale. Elle touche à tous les domaines de la médecine et ouvre même sur des pathologies émergentes, notamment dans le domaine infectieux. On peut citer l'exemple de l'hépatite E chronique ou du virus BK chez les greffés de rein. Par ailleurs, les progrès liés au développement de stratégies d'immunosuppression et d'induction de tolérance en transplantation peuvent s'appliquer aux pathologies auto-immunes et inflammatoires chroniques.

Translationalnelle et multidisciplinaire, la recherche en transplantation nécessite une organisation en réseau entre les différents centres de transplantation et avec les laboratoires de recherche. L'amélioration des résultats quantitatifs et qualitatifs de la greffe implique de développer de nouvelles voies de recherche dans plusieurs thématiques.

Tout d'abord, il faut reconsidérer les stratégies d'immuno-intervention. L'induction d'une tolérance immunitaire opérationnelle, définie comme une survie à long terme du greffon en l'absence d'immunosuppression chronique, est devenue une approche d'avenir du moins dans certains sous-groupes de populations. Une meilleure connaissance des mécanismes conduisant au développement de la tolérance immunitaire ainsi que ceux impliqués dans le développement des lésions du rejet chronique permettra de mettre au point de nouvelles stratégies thérapeutiques mieux ciblées.

Le suivi du statut immunologique des patients transplantés et la prédiction, à court terme, de la survie du greffon à long terme ne pourra s'effectuer qu'à l'aide de marqueurs le moins invasifs possibles, utilisables en pratique clinique et, surtout, validés de manière adéquate dans le contexte de protocoles prospectifs.

Il est fondamental de se pencher de manière avisée sur l'ensemble de la problématique du prélèvement d'organes et de la conservation des greffons. Il ne s'agit pas uniquement de faire plus mais aussi de faire mieux. Ce sont les caractéristiques intrinsèques de l'organe prélevé et des liquides de conservation utilisés qui sous-tendent la stimulation de l'immunité innée qui s'en suit avec tous les éléments délétères qu'elle comporte. La recherche dans le

domaine de la protection des greffons contre les lésions d'ischémie/reperfusion (approches de pré- et de postconditionnement, définition de la place des machines de perfusion d'organe *ex vivo*, par exemple) prend toute sa valeur dans le contexte actuel de pénurie d'organes et d'utilisation de greffons marginaux.

Un certain nombre de ces problématiques de recherche sont discutées tout au long de l'expertise. Néanmoins, cette dernière ne couvre pas l'ensemble du champ de recherche sur la transplantation. Par exemple, les travaux très innovants sur la xénogreffe, dont les applications cliniques sont encore limitées, ne sont pas abordés dans ce document. L'analyse des travaux et des implications éthiques concernant la xénogreffe nécessiterait une expertise spécifique.



I

Tolérance et rejet  
en transplantation



## 1

## Tolérance d'allogreffe : des modèles expérimentaux à la clinique

Pour tous ceux qui ont vécu l'histoire de l'immunosuppression en transplantation clinique au cours des vingt cinq dernières années, le bilan est certainement moins optimiste que ce que l'on aurait espéré.

Jusqu'au début des années 1980, les seuls traitements disponibles étaient les corticostéroïdes, l'azathioprine et les sérums polyclonaux anti-lymphocytes. Au cours des deux décennies suivantes, sont progressivement apparus et sont devenus accessibles pour l'usage clinique toute une série d'immunosuppresseurs chimiques et biologiques dont l'action était de plus en plus sélective pour les populations de cellules immunitaires, en particulier les lymphocytes T, et pour leurs voies de signalisation intracellulaire. Cependant, ces approches thérapeutiques reposent essentiellement sur l'utilisation conjointe de plusieurs de ces médicaments immunosuppresseurs, administrés de manière chronique, dont l'effet est par définition non spécifique des antigènes impliqués dans les réactions de rejet, les alloantigènes. Par ailleurs, le fait même que la règle soit désormais devenue l'association thérapeutique a fait perdre tout le bénéfice d'une action immunopharmacologique sélective de chaque produit individuel. Aujourd'hui, on utilise de manière courante des protocoles d'immunosuppression souvent très lourds couvrant un large spectre d'actions qui sont certainement très efficaces pour la prévention du rejet aigu d'allogreffe (notamment en transplantation rénale, hépatique et cardiaque) mais demeurent sans effet évident sur le rejet chronique, qui reste la cause la plus importante de perte de fonction des greffons à long terme. De surcroît, ces traitements exposent les patients à bon nombre d'effets secondaires. Ils sont liés non seulement à la toxicité intrinsèque des produits mais également, du fait de leur manque de spécificité, à la dépression globale de l'immunité qu'ils entraînent ce qui explique le risque accru de survenue d'infections et de tumeurs (souvent secondaires à des infections virales). Enfin, ces thérapeutiques sont coûteuses comme le sont également celles utilisées dans la prophylaxie ou le traitement des effets secondaires engendrés.

Force est de constater que cet état de fait a complètement invalidé le dogme qui a prévalu pendant longtemps et suivant lequel le rejet aigu était la cause



majeure de la survenue du rejet chronique, et a justifié le développement de protocoles d'immunosuppression de plus en plus agressifs. Face à un tel bilan, il semblerait judicieux d'admettre que même si des progrès majeurs ont été accomplis, la situation est loin d'être idéale. En théorie, envisager des stratégies d'induction de tolérance immunitaire opérationnelle représente la seule issue d'une situation aussi complexe. Tout le problème est de trouver la manière d'accomplir ce changement dans la pratique clinique tout en restant dans un contexte qui soit éthiquement acceptable et qui doit, par définition, tenir compte du fait que les traitements dits conventionnels permettent d'atteindre un taux très élevé de survie des greffons à un an avec une absence quasi-totale de rejet aigu chez les patients non immunisés.

## Définition de la tolérance d'allogreffe

Au sens strict, la tolérance d'allogreffe est définie comme l'absence de réaction destructrice vis-à-vis des alloantigènes du greffon par le système immunitaire de l'hôte alors que sont préservées les réactions immunitaires spécifiques d'antigènes étrangers ou tumoraux.

Cette définition, tout à fait valable dans le contexte expérimental, doit cependant être nuancée lorsqu'il s'agit de transfert à la clinique. En effet, du fait de la difficulté, voire de l'impossibilité de tester de manière directe la réactivité immunitaire du receveur vis-à-vis des alloantigènes du donneur, on parle le plus souvent de « tolérance opérationnelle » à savoir, une situation où l'on constate une survie fonctionnelle du greffon à long terme en l'absence d'immunosuppression chronique (Waldmann, 1999). Il semble évident que lorsqu'une stratégie thérapeutique donnée a permis d'induire une survie durable du transplant en l'absence totale de traitement immunosuppresseur, le receveur est bien tolérant aux alloantigènes même si pour des raisons pratiques (absence de disponibilité des cellules du donneur, absence de tests permettant de cibler de manière directe les mécanismes qui sous-tendent la tolérance...) il soit impossible de conclure de manière définitive.

Chez l'animal, différentes stratégies thérapeutiques ont permis d'aboutir à une tolérance opérationnelle. Les expériences séminales de Billingham, Brent et Medawar, qui leur ont valu le Prix Nobel, avaient établi, il y a plus de 50 ans, qu'une tolérance immunitaire durable vis-à-vis d'alloantigènes pouvait être obtenue, en l'absence de traitement (Billingham et coll., 1953). Cependant, le transfert à la clinique d'une telle stratégie s'est avéré plus laborieux que prévu. Ainsi, divers problèmes d'ordre pratique et éthique ont jusque-là empêché un transfert à la clinique de la plupart des stratégies, avec quelques exceptions, dont le but ultime est la suspension totale de

tout traitement immunosuppresseur. Néanmoins, au cours de la dernière décennie, toute la communauté de transplantation, consciente des enjeux, a été particulièrement sensibilisée à l'idée que les stratégies d'induction de tolérance en transplantation clinique ne pourront voir le jour que grâce à une démarche pas à pas.

La manière la plus efficace d'aboutir à une tolérance en transplantation consiste en la possibilité d'exploiter certains des mécanismes immunologiques qui sous-tendent la tolérance immunitaire physiologique, pour faire en sorte de « reprogrammer » le système immunitaire. Ainsi, tout en reconnaissant les alloantigènes du greffon, il ne génère pas à leur égard de réaction immunitaire « agressive » (Monaco et coll., 1966 ; Brent et coll., 1967 ; Wood et coll., 1971 ; Cobbold et coll., 1992). Il s'agit en tout état de cause de savoir comment aller de la tolérance au soi vers la tolérance en transplantation.

Pendant longtemps, ce dogme était que l'induction d'une tolérance immunitaire d'allogreffe ne pouvait s'établir que suite à la déplétion clonale, en grande partie dans le thymus, d'un nombre significatif des clones lymphocytaires T alloréactifs. En d'autres termes, il s'agissait de l'établissement d'une tolérance dite centrale (Sykes et coll., 1988 ; Sykes et Sachs, 1990). Cependant, des données solides ont été accumulées dans la littérature au cours de ces vingt dernières années démontrant qu'une tolérance d'allogreffe peut s'établir, chez l'individu adulte, grâce à des mécanismes de tolérance immunitaire dite périphérique et n'impliquant pas la déplétion des lymphocytes T alloréactifs (Qin et coll., 1993 ; Cobbold et Waldmann, 1998 ; Plain et coll., 1999 ; Bushell et coll., 2003 ; Cobbold et coll., 2006 ; Waldmann et coll., 2006 ; Wood et Sawitzki, 2006). Ces mécanismes, que l'on a pu décrypter en analysant la tolérance physiologique ou tolérance au « soi », incluent l'anergie lymphocytaire et l'émergence de cellules T régulatrices ou, d'après l'ancienne terminologie, de cellules T suppressives. Ils assurent une tolérance active, transférable dénommée également « infectieuse » d'après le terme choisi par Gershon, le premier à avoir décrit le phénomène (Gershon et coll., 1971).

## Mécanismes de la tolérance au « soi »

Le système immunitaire de tout individu normal ne développe pas de réaction agressive vis-à-vis des tissus de l'hôte qui l'héberge bien qu'il soit désormais clairement établi que tout individu, indemne de pathologie auto-immune, héberge des lymphocytes autoréactifs dirigés contre divers autoantigènes ou antigènes du soi. L'existence de ces lymphocytes B et T autoréactifs est prouvée par la présence d'autoanticorps naturels et par la possibilité d'induire des lignées ou des clones de lymphocytes T autoréactifs à partir de sang humain

normal. Chez l'animal, on peut provoquer une maladie auto-immune par simple administration d'autoantigènes à des animaux normaux, n'ayant pas de prédisposition particulière à développer une pathologie auto-immune spontanée (Nussenblatt et coll., 1990 ; Miller et coll., 1992 ; Williams et coll., 1992). L'absence de maladies auto-immunes malgré la présence de lymphocytes B et T autoréactifs a été pendant longtemps un paradoxe central de l'immunologie. Ces mécanismes, que l'on comprend de mieux en mieux désormais, sont d'autant plus importants que lorsqu'ils sont déficients ou mal contrôlés on assiste à l'émergence des maladies auto-immunes.

Deux voies principales agissent de manière non mutuellement exclusive pour maintenir la tolérance au soi ; il s'agit des mécanismes de tolérance centrale et de tolérance périphérique.

### **Tolérance centrale**

La tolérance centrale, comme son nom l'indique, prend place au niveau des organes lymphoïdes centraux où se déroulent l'ontogenèse et la différenciation des cellules lymphocytaires. Il s'agit chez l'homme de la moelle osseuse pour les lymphocytes B et du thymus pour les lymphocytes T.

Au cours de la différenciation, les lymphocytes autoréactifs les plus dangereux, car porteurs de récepteurs de très haute affinité pour les autoantigènes, sont en règle générale détruits par un phénomène de sélection « négative » (Kisielow et coll., 1988 ; Nossal, 1983 et 1994). Cette sélection négative implique une mort cellulaire par apoptose, c'est-à-dire une mort cellulaire programmée secondaire à la transduction de signaux intracellulaires aboutissant à l'activation d'enzymes spécialisées, les caspases, qui vont fragmenter l'ADN. Le filtre de la sélection négative qui concerne les autoantigènes exprimés par des cellules spécialisées dans le thymus et la moelle osseuse est cependant loin d'être parfait puisque l'on retrouve des lymphocytes autoréactifs à la périphérie.

### **Tolérance périphérique**

Il existe des mécanismes que l'on regroupe sous la dénomination de tolérance périphérique, qui permettent de contrôler le potentiel pathogène des effecteurs autoréactifs ayant échappé à la sélection négative. Nous allons nous intéresser plus particulièrement aux mécanismes de tolérance périphérique touchant les lymphocytes T, car ils sont les cibles privilégiées en matière de tolérance d'allogreffe, tout en sachant que des phénomènes identiques sont opérationnels pour les lymphocytes B.

Les cellules T autoréactives expriment des récepteurs spécifiques pour les autoantigènes, mais peuvent ne pas « reconnaître » les cellules présentant

ces autoantigènes, par un phénomène dit « d'indifférence immunitaire » (Ohashi et coll., 1991). Cette indifférence est due, du moins en partie, au fait que la plupart des cellules de l'organisme qui portent les autoantigènes ne les « présentent » pas de manière adéquate ou « professionnelle » aux cellules immunitaires, c'est-à-dire en présence de récepteurs spécialisés ou de molécules de « co-stimulation » qui sont en mesure d'apporter aux lymphocytes T tous les signaux indispensables à leur activation. Ainsi, seules les cellules dendritiques sont des cellules « professionnelles » de la présentation de l'antigène, capables de délivrer tous les signaux indispensables à la stimulation efficace du lymphocyte T naïf (Ohashi et coll., 1991). On sait aujourd'hui que l'indifférence immunitaire fait intervenir également un manque de stimulation de récepteurs de l'immunité innée, les *Toll-Like Receptors* ou TLR. Ainsi, un état d'indifférence immunitaire peut être rompu lorsque l'autoantigène est présenté aux lymphocytes T par des cellules portant des molécules de co-stimulation et en présence d'agents stimulant les TLR notamment lorsque les cellules cibles sont localisées au sein d'un site inflammatoire, par exemple induit par une infection virale (Lang et coll., 2005).

Mais comment expliquer alors que la seule thymectomie réalisée chez une souris normale dans les jours suivant la naissance induit un syndrome polyauto-immun ? Il s'est avéré que cette thymectomie précoce prévient la dissémination à la périphérie d'une catégorie fonctionnelle particulière de lymphocytes T aux propriétés régulatrices qui suppriment l'autoréactivité physiologique (Sakaguchi, 2000 et 2005). L'auto-immunité peut donc découler d'un défaut ou d'un débordement de mécanismes d'immunorégulation qui modulent l'intensité des réponses immunitaires (Bach et Chatenoud, 2001 ; Bluestone et Abbas, 2003).

## Cellules T régulatrices

L'existence d'une immunorégulation est désormais bien prouvée. Elle fait intervenir deux grandes catégories de cellules T régulatrices, appelées également Treg, les Treg naturelles et les Treg induites ou adaptatives.

### *Cellules Treg naturelles*

Les cellules Treg naturelles d'origine thymique constituent une lignée de thymocytes distincte, caractérisée par l'expression du marqueur CD25 (la chaîne  $\alpha$  du récepteur de l'interleukine IL-2) et du facteur de transcription FoxP3 (Fontenot et coll., 2003 ; Setoguchi et coll., 2005). C'est de ces cellules Treg d'origine thymique dont il était question ci-dessus dans le cas de la thymectomie. Dans ce cas, l'absence de thymus induit un déficit profond en cellules Treg naturelles et génère un syndrome polyauto-immun incluant une gastrite, une thyroïdite, une orchite ou oophorite (suivant le sexe de la

souris) et, plus rarement un diabète insulino-dépendant. L'identification du gène *FoxP3* est intervenue de manière tout à fait indépendante à l'étude des lymphocytes T régulateurs grâce aux recherches visant à identifier le gène responsable, chez l'homme, d'une maladie rare dénommée syndrome IPEX (pour *Immune dysregulation, Polyendocrinopathy, Enteropathy, X linked*) et décrite initialement en 1982. Comme son nom l'indique, ce syndrome regroupe un ensemble de manifestations auto-immunes et dysimmunitaires sévères (dont une colite inflammatoire ou entéropathie, un diabète de type 1 insulino-dépendant) qui apparaissent très tôt dans la vie d'enfants de sexe masculin (Wildin et coll., 2002). Un syndrome polyauto-immun analogue avait été identifié en 1959 chez une souris porteuse d'une mutation spontanée, la souris *scurfy* (Lyon et coll., 1990). Malgré cette description ancienne du syndrome humain et murin, ce n'est que récemment qu'il a été décrit que le même gène est muté dans ces deux situations et qu'il s'agit de *FoxP3*. *FoxP3* est un membre de la famille des facteurs de transcription *forkhead winged-helix* qui en compte 40. Différentes mutations de *FoxP3* ont été décrites chez les patients IPEX qui sont dans leur majorité localisées dans la région *forkhead* qui se lie à l'ADN (Wu et coll., 2006). Chez la souris *scurfy*, la mutation entraîne la transcription d'une forme tronquée du facteur de transcription *FoxP3*, dépourvue du domaine *forkhead* liant l'ADN.

De manière indépendante et simultanée en 2003, trois laboratoires différents ont démontré que l'expression de *FoxP3* était très nettement augmentée dans les lymphocytes Treg naturels CD4+CD25+ (Fontenot et coll., 2003 ; Hori et coll., 2003 ; Khattri et coll., 2003). Par ailleurs, il s'est avéré que ces lymphocytes sont peu nombreux, voire totalement absents, chez les souris *scurfy* ainsi que chez des souris invalidées par recombinaison homologue pour l'expression du gène *FoxP3* (souris *FoxP3*<sup>-/-</sup>) qui, elles aussi, présentent un syndrome polyauto-immun. Aussi bien chez la souris *scurfy* que chez la souris *FoxP3*<sup>-/-</sup>, la maladie est contrôlée par l'infusion (ou transfert) de cellules régulatrices CD4+CD25+*FoxP3*<sup>+</sup> provenant de souris normales.

Enfin, lorsque l'on transduit des lymphocytes T CD4+CD25<sup>-</sup> conventionnels non régulateurs avec des rétrovirus codant pour *FoxP3*, ces cellules, qui expriment le facteur de transcription en forte quantité, acquièrent des capacités régulatrices et expriment différentes molécules de surface typiques des lymphocytes régulateurs dont CD25, CTLA-4 et GITR. Par ailleurs, on note chez ces lymphocytes transduits, tout comme chez les lymphocytes T régulateurs naturels, une inhibition de la transcription de nombreux gènes codant pour des cytokines telles que l'IL-2, l'IL-4 ou encore l'IFN- $\gamma$ . *FoxP3* semble donc agir comme un répresseur de la transcription de ces gènes.

Quelles sont les bases moléculaires de l'action de *FoxP3* qui expliquent que son expression soit associée à la fonction de régulation/suppression ? Il s'agit là d'une question fondamentale pour laquelle il n'existe à l'heure actuelle que des éléments très partiels de réponse.

### ***Cellules Treg adaptatives***

Les cellules Treg induites ou adaptatives sont, contrairement aux Treg naturelles, issues de lymphocytes T matures, en majorité CD4+, présents à la périphérie qui acquièrent leur fonction régulatrice lorsqu'ils sont activés par divers antigènes dans des conditions adéquates, notamment dans un environnement incluant des cytokines plus particulièrement l'IL-10, le TGF- $\beta$  (*Transforming Growth Factor  $\beta$* ) ou encore l'IL-4 (Chen et coll., 2003 ; Roncarolo et coll., 2006). Cette dépendance de cytokines des cellules Treg adaptatives pour leur différenciation et/ou leur fonction est une caractéristique majeure qui semble les distinguer des cellules Treg naturelles. Ces dernières peuvent exercer leurs actions en privilégiant le contact cellulaire de manière indépendante de toute cytokine immunorégulatrice (Bach et Chatenoud, 2001 ; Bluestone et Abbas, 2003).

## **De la tolérance au « soi » à la tolérance en transplantation**

Au risque de paraître réductionnistes, nous allons nous concentrer sur deux des mécanismes sous-jacents à la tolérance au « soi », la tolérance centrale par déplétion ou sélection négative et la tolérance périphérique faisant intervenir des cellules Treg car ce sont là deux concepts qui sont le plus activement exploités à l'heure actuelle et qui semblent très prometteurs pour mettre en place des stratégies permettant d'aboutir à une tolérance en transplantation.

### **Greffe de moelle osseuse du donneur et tolérance d'allogreffe d'organe**

Les stratégies basées sur la possibilité de « forcer » la sélection négative des lymphocytes T autoréactifs dans le thymus ont fait appel dans ce but à l'inoculation de moelle osseuse du donneur préalablement à la greffe d'organe.

#### ***Induction de tolérance chez la souris***

Le groupe de Peter Medawar réalisa, dans les années 1950, les expériences qui lui valurent le Prix Nobel montrant que l'administration à des souriceaux nouveau-nés de moelle osseuse et de cellules allogéniques (exprimant des antigènes d'histocompatibilité distincts de ceux de l'hôte), en l'absence de tout autre traitement immunosuppresseur, induit un état de tolérance. Cet état de tolérance se manifeste par le fait que ces souris, une fois adultes, ne rejettent pas les allogreffes de peau provenant de donneurs totalement identiques (ou histocompatibles) avec le donneur des cellules de moelle

osseuse injectées à la naissance alors qu'elles sont capables de rejeter une greffe de peau provenant d'une souris tierce (Billingham et coll., 1953).

Deux mécanismes expliquent cet effet. Tout d'abord, à ce très jeune âge les lymphocytes T se différencient de manière très active dans le thymus. Les cellules allogéniques injectées qui migrent dans le thymus, à l'instar des cellules présentant les autoantigènes que nous avons citées précédemment, « forcent » la sélection négative par apoptose des lymphocytes T alloréactifs de haute affinité. On peut en effet prouver grâce à des techniques dites de dilutions limites que la fréquence des cellules T alloréactives chez les souris tolérantes est diminuée environ de moitié par rapport à celle de souris normales. En deuxième lieu, on retrouve chez les hôtes tolérants des cellules Treg, capables de transférer la tolérance d'allogreffe à des hôtes naïfs de tout traitement. En d'autres termes, ces souris nouveau-nées, dont le système immunitaire est encore immature, sont particulièrement sensibles à l'induction de la tolérance suite à l'injection de moelle osseuse ou de cellules allogéniques du donneur, et ce, par le biais de mécanismes immunitaires qui combinent des phénomènes de tolérance centrale et de tolérance périphérique (Abramowicz et coll., 1990).

La question de fond qui se pose afin qu'une telle démarche puisse avoir une quelconque application thérapeutique en transplantation d'organes est de savoir s'il est possible de reproduire un tel phénomène chez un individu adulte.

D'une manière générale si l'on pratique chez un hôte receveur d'une greffe d'organe, une transplantation de moelle allogénique (l'organe et la moelle provenant du même donneur), le système immunitaire de l'hôte est éliminé et complètement remplacé par celui du donneur. C'est ce qui explique d'ailleurs la présence dans ce genre de situation d'un chimérisme complet à savoir, une fois que la reconstitution hématopoïétique est complète toutes les cellules hématopoïétiques du receveur sont de phénotype donneur. Dans ce cas, la greffe d'organe est parfaitement acceptée de manière durable en l'absence de tout traitement immunosuppresseur. Cependant, contrairement à la manipulation que nous avons discuté chez les souriceaux nouveaux-nés, la réalisation d'une greffe de moelle allogénique chez un receveur adulte pose deux problèmes majeurs qui empêchent son application clinique à la grande majorité des patients : tout d'abord cette stratégie implique un traitement de « conditionnement » drastique du receveur visant à l'élimination complète de tout son système hématopoïétique et, deuxièmement, suite à la greffe, la survenue fréquente d'une réaction du greffon contre l'hôte (GvH), situation souvent létale, est un risque totalement inacceptable. La situation au cours de laquelle ce processus a pu être appliqué chez l'homme est celle de patients ayant bénéficié d'une greffe de moelle allogénique pour une maladie hématologique et ayant présenté ultérieurement une insuffisance

rénale terminale nécessitant une transplantation rénale. Chez ces patients ayant un macrochimérisme, la greffe de rein du même donneur que celui de la moelle peut se faire sans aucun traitement immunosuppresseur, démontrant ainsi que la tolérance peut être acquise en transplantation chez l'homme par l'injection préalable de cellules souches hématopoïétiques.

### ***Vers une induction de tolérance en clinique***

C'est donc dans ce contexte que se sont développées des stratégies que l'on peut définir « intermédiaires » qui consistent en l'inoculation de cellules de moelle du donneur chez un receveur chez qui le conditionnement n'implique pas une myéloablation complète.

Plusieurs laboratoires se sont penchés sur cette problématique. C'est certainement celui de Sachs et de Sykes à Boston qui a le plus contribué à développer cette voie en vue d'une application clinique, à laquelle ils ont d'ailleurs très récemment abouti. Le principe est simple. Il s'agit de pratiquer une myéloablation partielle grâce à une irradiation corporelle à faible dose associée à une irradiation de la loge thymique à plus forte dose suivie par un traitement de courte durée par un sérum polyclonal ou un anticorps monoclonal anti-lymphocytes (Sykes et coll., 1988 ; Sykes et Sachs, 1990 ; Wekerle et coll., 2002 ; Spitzer et coll., 2003). C'est sous couvert de ce dernier traitement que la transplantation de moelle osseuse du donneur suivie de la greffe d'organe a été pratiquée. Un traitement par ciclosporine est institué au moment de la greffe d'organe qui est appliqué pendant seulement quelques mois. Ce protocole, mis au point suite à des années d'études effectuées tout d'abord chez la souris puis chez le singe, permet des survies de greffes d'organe (peau chez la souris et rein chez le singe) à très long terme, voire indéfinies en l'absence de tout traitement immunosuppresseur (Pascual et coll., 2002 ; Murakami et coll., 2009).

Les mécanismes immunitaires sous-jacents varient quelque peu en fonction de l'espèce concernée. Chez la souris, à l'évidence, les cellules de moelle du donneur sont retrouvées dans le thymus du receveur où elles jouent un rôle important dans la sélection négative d'une certaine proportion des cellules alloréactives. Ceci se manifeste également par la présence d'un macrochimérisme, c'est-à-dire que chez l'hôte reconstitué et tolérant on observe une proportion significative de cellules hématopoïétiques de phénotype donneur (au moins 20 à 30 %) (Sykes et coll., 1988 ; Sykes et Sachs, 1990 ; Wekerle et coll., 2002 ; Spitzer et coll., 2003). En revanche, chez le singe la situation semble différente. Le macrochimérisme existe dans les quelques jours qui suivent la greffe de moelle du donneur mais il disparaît très rapidement ce qui suggère que dans ce cas les phénomènes de tolérance périphérique, impliquant notamment des cellules Treg et donc vraisemblablement plutôt de type adaptatifs, sont essentiels dans le maintien de la tolérance d'allogreffe (Murakami et coll., 2009).



De manière remarquable, cette approche a récemment fait l'objet d'un transfert à la clinique. Cinq patients receveurs d'allogreffes rénales à partir de donneurs vivants haplo-identiques ont été traités de la sorte (Kawai et coll., 2008). Avec un recul maintenant de plus de un an après un arrêt total de l'immunosuppression, le bilan est que 4 des patients ont conservé une fonction rénale complètement normale. Chez un patient, à l'arrêt du traitement immunosuppresseur, un rejet humoral est survenu qui a été contrôlé par les traitements conventionnels. Chez l'homme, comme chez le primate, un macro-chimérisme est observé uniquement dans les tous premiers jours qui suivent la greffe de moelle allogénique (Kawai et coll., 2008). Bien que ces résultats soient très encourageants, il faut encore se donner du temps pour savoir si les patients vont rester tolérants sur le long terme, et s'ils ne vont pas développer des anticorps dirigés contre le donneur, les stratégies utilisées ciblant davantage les lymphocytes T que les lymphocytes B.

### **Anticorps monoclonaux anti-lymphocytes T : des outils permettant de générer des cellules T régulatrices adaptatives inductrices de tolérance**

Les travaux pionniers de Medawar, cités plus haut, ont été suivis par de très nombreuses tentatives visant à recréer, chez l'individu adulte, un statut immunitaire propice à l'établissement d'une tolérance immunitaire, analogue à celui du nouveau-né. Il est important de citer ici l'apport essentiel du groupe de Monaco au début des années 1970 qui fut le premier à démontrer qu'une administration de courte durée de certains immunosuppresseurs, en particulier de nature biologique tels que des anticorps polyclonaux anti-lymphocytes T, favorisait, chez la souris, l'induction d'une tolérance immunitaire vis-à-vis d'allogreffes de peau (Wood et coll., 1971). L'avènement des anticorps monoclonaux vers le milieu des années 1970 a permis de confirmer qu'un « conditionnement » adéquat du receveur par administration d'anticorps ciblant des récepteurs de surface lymphocytaire fonctionnellement importants pouvait reproduire de manière satisfaisante les observations faites initialement avec les sérums anti-lymphocytes T polyclonaux. Fait essentiel, chez les rongeurs il a été bien démontré que la tolérance immunitaire peut être induite par ce type de stratégie chez des hôtes adultes thymectomisés prouvant ainsi que les mécanismes immunitaires sous-jacents relèvent bien d'une tolérance périphérique (Qin et coll., 1989 et 1993).

On peut donc affirmer que, contrairement aux immunosuppresseurs conventionnels qui agissent soit en éliminant les cellules immunitaires soit en inhibant leurs capacités fonctionnelles, les anticorps monoclonaux spécifiques de certains récepteurs lymphocytaires ont la capacité singulière et remarquable d'induire, lorsqu'ils sont administrés de manière adéquate, une tolérance immunitaire vis-à-vis d'antigènes solubles ou tissulaires. Une tolérance peut

être obtenue aussi bien vis-à-vis des alloantigènes, dans le cas de la transplantation, que des autoantigènes dans le cas de maladies auto-immunes établies.

D'une manière générale, les produits biologiques (anticorps monoclonaux, protéines de fusion) possèdent un spectre beaucoup plus large d'activités pharmacologiques et biologiques d'où leur capacité de « reprogrammer » les fonctions du système immunitaire. Ainsi, suivant leur spécificité fine, ces agents pourront non seulement éliminer leurs cellules cibles ou inhiber leur fonction, mais également agir comme des agonistes sur des sous-populations lymphocytaires spécialisées en transduisant des signaux d'activation ou encore neutraliser efficacement l'action de cytokines ou de chimiokines. Nombre de ces agents ont montré leur capacité d'induire la prolifération et/ou la différenciation des lymphocytes T régulateurs (Graca et coll., 2002 ; Cobbold et coll., 2004 ; Wood et coll., 2004). Le problème reste posé de comprendre exactement si ces cellules T régulatrices sont issues des cellules naturelles suppressives ou s'il s'agit plutôt de lymphocytes T régulateurs de type adaptatif. Il est d'ailleurs fondamental de souligner à ce point qu'une déplétion lymphocytaire massive ne semble pas être un prérequis fondamental de l'induction de tolérance. Les sérums anti-lymphocytes polyclonaux sont de puissants agents déplétants ce qui n'est pas le cas de nombreux anticorps monoclonaux anti-lymphocytes T aux propriétés tolérogènes (anti-CD4 associés ou non à des anti-CD8, anti-CD3, agents ciblant les molécules de co-stimulation). Il n'en reste pas moins vrai que cette conclusion doit être modulée surtout en fonction d'histo-incompatibilité à laquelle on doit faire face : plus la disparité est grande entre donneur et receveur d'organe et plus il est important, du moins dans la période initiale post-greffe, d'agir de manière « agressive » en bénéficiant d'agents capables d'éliminer (du moins en partie) les cellules T alloréactives activées par la voie directe, c'est-à-dire par la reconnaissance du complexe formé par la molécule HLA et le peptide du donneur.

L'ensemble des données disponibles dans la littérature suggèrent que les mécanismes qui sous-tendent l'action tolérogène des produits biologiques relèvent, en proportion différente suivant les agents, d'une déplétion lymphocytaire (dont les mécanismes sont variés et distincts en fonction des agents) et d'une immunorégulation impliquant à la fois une déviation immune et/ou une induction de cellules T régulatrices.

Note pratique importante : les anticorps monoclonaux de première génération produits par des hybridomes de souris ou de rat ont été introduits en clinique il y a plus de 25 ans en transplantation d'organes. Ces anticorps suscitaient deux effets secondaires principaux à savoir, l'immunisation vis-à-vis de la protéine xénogénique et, pour certaines spécificités, une importante libération de cytokines du fait de leur pouvoir mitogénique/activateur, expliquant que leur utilisation se soit initialement limitée à la transplantation. La

production d'anticorps monoclonaux humanisés, voire même humains, qui sont moins immunogènes et mieux tolérés a complètement modifié le panorama en permettant une utilisation beaucoup plus large de ces outils thérapeutiques (Riechmann et coll., 1988).

Avant de s'intéresser au cas particulier des anticorps anti-CD3, il est intéressant de citer les produits biologiques ciblant les voies de co-stimulation. L'activation efficace des lymphocytes B ou T naïfs nécessite la transduction simultanée de deux signaux. Le premier signal est celui transduit par le récepteur pour l'antigène et le deuxième celui qui émane de la stimulation des récepteurs dits de co-stimulation. On comprend, dès lors, l'importance thérapeutique que pourraient revêtir des agents biologiques ciblant ces voies de co-stimulation. Dans le cas des lymphocytes naïfs, les signaux de co-stimulation sont essentiellement transduits par la stimulation du récepteur CD28 qui interagit de manière spécifique avec ses ligands, les molécules de la famille B7, B7.1 (CD80) et B7.2 (CD86), à la surface des cellules présentatrices d'antigènes. Des protéines de fusion ont été produites utilisant la molécule CTLA-4 (pour « *cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4* » ou CD152) qui est un récepteur homologue de CD28 mais qui, à la différence de ce dernier, est exprimé, à de rares exceptions près, uniquement à la surface des lymphocytes T activés (Linsley et coll., 1991). En effet, le récepteur CTLA-4 est également exprimé de manière constitutive par les cellules T régulatrices CD4+CD25+ dont nous avons parlé précédemment (Read et coll., 2000 ; Takahashi et coll., 2000). La protéine de fusion CTLA4-Ig inclue le domaine extracellulaire de CTLA-4 associé au domaine Fc d'une IgG1 humaine (Linsley et coll., 1992). Elle est en mesure de bloquer de manière efficace de nombreuses réponses immunitaires pathogènes comme cela a été montré dans des modèles expérimentaux d'auto-immunité et de transplantation (Lenschow et coll., 1992 ; Lin et coll., 1993 ; Finck et coll., 1994 ; Lakkis et coll., 1997 ; Onodera et coll., 1997). En transplantation clinique, cette molécule (CTLA4-Ig, bélatcept) a été utilisée avec succès comme immunosuppresseur dans la prévention du rejet d'allogreffe rénale (Vincenti et coll., 2005). Des essais utilisant le bélatcept et visant à tester la possibilité d'induire une tolérance immunitaire sont en cours, non pas en transplantation mais en auto-immunité (polyarthrite rhumatoïde et psoriasis).

Une autre voie de co-stimulation très importante pour la coopération efficace entre cellules immunitaires concerne le couple CD40/ligand de CD40 (CD40L). CD40 est un membre de la superfamille des récepteurs du TNF exprimé de manière constitutive à la surface de nombreux types cellulaires dont les lymphocytes B et les cellules présentatrices de l'antigène. CD40 interagit avec son ligand, CD40L (CD154), un membre de la superfamille du TNF exprimé sélectivement à la surface des lymphocytes T activés. L'interaction CD40/CD40L est indispensable pour la coopération entre lymphocytes B et lymphocytes T, c'est d'elle que dépendent la

formation des centres germinatifs et la commutation isotypique au cours de la différenciation des lymphocytes B, après leur rencontre avec l'antigène.

Aussi bien chez la souris que chez le singe, l'administration d'anticorps anti-CD40L, seuls ou en association avec CTLA4-Ig, avait suscité un grand intérêt en transplantation, pour prolonger la survie d'allogreffes, et en auto-immunité (Larsen et coll., 1996 ; Larsen et Pearson, 1997 ; Niimi et coll., 1998 ; Kirk et coll., 1999). L'enthousiasme est néanmoins rapidement retombé au vu des résultats des premiers essais cliniques utilisant un anticorps anti-CD40L, chez des receveurs d'allogreffe rénale et chez des patients atteints de lupus érythémateux disséminé, qui ont montré la survenue de complications thromboemboliques sévères (Boumpas et coll., 2003). En fait, la molécule CD40L est également exprimée à la surface des plaquettes ce qui explique leur activation/agrégation suite à la fixation de l'anticorps. Un autre anticorps de même spécificité, IDEC-131, utilisé dans le lupus n'a pas suscité ces mêmes effets secondaires mais, malheureusement, n'a pas montré d'efficacité non plus (Davis et coll., 2001 ; Kalunian et coll., 2002 ; Kuwana et coll., 2004).

### Cas particulier des anticorps monoclonaux anti-CD3

L'histoire des anticorps monoclonaux anti-CD3 est totalement paradoxale. L'anticorps monoclonal OKT3, une IgG2a de souris, a été le premier monoclonal introduit en clinique au début des années 1980 avant même que la structure complexe de la molécule CD3 et son importance fonctionnelle ne soient connues (Clevers et coll., 1988 ; Davis et Chien, 1999). OKT3 a initialement été utilisé pour traiter et prévenir le rejet d'allogreffe rénale (Cosimi et coll., 1981 a et b ; Vigerl et coll., 1986 ; Debure et coll., 1988) sans que des données précliniques ne soient disponibles du fait de leur très étroite spécificité d'espèce. En effet, les anticorps anti-CD3 humains n'ont de réactivité croisée qu'avec les lymphocytes T de chimpanzé. Au cours des années 1980, toute une série d'études contrôlées ont clairement démontré que OKT3 était un immunosuppresseur extrêmement puissant, très efficace pour le traitement des épisodes de rejet aigu d'allogreffe rénale (Cosimi et coll., 1981 a et b ; Ortho, 1985), une indication pour laquelle il fut rapidement commercialisé aux États-Unis et en Europe. Le suivi des patients traités par OKT3 a permis d'acquérir un énorme bagage de connaissances sur le mode d'action et les effets secondaires des anticorps monoclonaux murins. Au cours des dix dernières années, l'utilisation de OKT3 a été quasi complètement abandonnée du fait du problème de sa mitogénicité (Chatenoud et coll., 1986, 1989 et 1990 ; Cosimi, 1987 ; Abramowicz et coll., 1989 ; Eason et Cosimi, 1999 ; Chatenoud, 2003) et de la disponibilité de nouveaux immunosuppresseurs biologiques bien mieux tolérés (dont les anticorps anti-CD25).

Le travail expérimental conduit dans différents modèles de rat et de souris a rapidement suggéré qu'au-delà de leur puissante activité immunosuppressive, les anticorps anti-CD3 pouvaient induire une tolérance vis-à-vis d'alloantigènes et d'autoantigènes (Hayward et Shreiber, 1989 ; Nicolls et coll., 1993 ; Plain et coll., 1999). De plus, de manière plus surprenante, pouvaient également restaurer la tolérance au « soi » dans le contexte de pathologies auto-immunes établies (Chatenoud et coll., 1994 et 1997 ; Belghith et coll., 2003 ; Chatenoud, 2003). Sur la base de ces derniers résultats, les anticorps anti-CD3 ont été réintroduits en clinique, en auto-immunité, sous la forme d'anticorps humanisés non mitogéniques (Bolt et coll., 1993 ; Alegre et coll., 1994) pour une utilisation comme agents tolérogènes.

C'est en auto-immunité que les essais sont conduits à l'heure actuelle chez des patients présentant un diabète insulino-dépendant (de type 1) d'origine récente. Ces études cliniques sont fondées sur les résultats obtenus, il y a de nombreuses années, dans le modèle du diabète auto-immun spontané chez la souris NOD pour « *non obese diabetic* ». Ainsi, un traitement de courte durée, seulement cinq jours consécutifs, et à faible dose d'anticorps anti-CD3, induit une rémission complète de la maladie en restaurant la tolérance immunitaire vis-à-vis des antigènes des cellules d'îlots de Langherans (Chatenoud et coll., 1994 et 1997 ; Belghith et coll., 2003 ; Chatenoud, 2003). L'effet est durable et spécifique des autoantigènes des cellules  $\beta$  pancréatiques (Chatenoud et coll., 1994 et 1997). Les mécanismes immunitaires qui sous-tendent cet effet se développent en deux phases distinctes et consécutives (Chatenoud, 2003). La rémission est déclenchée par la disparition de l'infiltrat de cellules T des îlots (ou insulite) mais cette disparition est transitoire et n'est donc pas impliquée dans l'effet thérapeutique à long terme. Dès 2 semaines après la fin du traitement, l'insulite récidive mais sous forme d'un infiltrat périphérique qui n'envahit pas les îlots et ne détruit pas les cellules  $\beta$  résiduelles (Chatenoud, 2003 ; Chatenoud et coll., 1994). L'effet thérapeutique initial est relayé par la différenciation de cellules Treg appartenant à la catégorie des Treg adaptatives et qui dépendent étroitement de la production du TGF- $\beta$  (You et coll., 2007) et qu'elles dépendaient étroitement de la production du TGF- $\beta$  (Chatenoud, 2003 ; Belghith et coll., 2003 ; You et coll., 2006). L'anticorps induit bien un état de tolérance (du moins opérationnelle) puisque les lymphocytes T des souris protégées du diabète ne répondent pas de manière pathogène vis-à-vis des cellules d'îlots alors qu'elles récupèrent une capacité absolument normale de rejeter des greffes de peau allogéniques (Chatenoud et coll., 1994).

Le transfert à la clinique de cette stratégie a débuté en 2000. Dans une étude de phase I/II utilisant l'anticorps humanisé non mitogénique OKT3 $\gamma$ 1 Ala-Ala, 24 patients ont été inclus (12 traités par l'anticorps et 12 témoins non traités) (Herold et coll., 2002). Les résultats ont confirmé la bonne tolérance du produit tout en suggérant la présence d'un effet thérapeutique favorable

un an après le traitement. Cette tendance a été récemment confirmée par les résultats du suivi à deux ans d'un nombre plus important de patients (24 traités par l'anticorps et 24 témoins) (Herold et coll., 2005).

Une deuxième étude de phase II contrôlée, randomisée contre placebo, incluant un total de 80 patients et utilisant un autre anticorps monoclonal anti-CD3 humanisé non mitogénique dénommé ChAglyCD3 a été menée en Europe. Huit mg d'anticorps ou de placebo ont été administrés par jour pendant 6 jours consécutifs seulement (Keymeulen et coll., 2005). Les résultats ont montré que le traitement par l'anticorps préserve très efficacement la production d'insuline endogène (évaluée par la mesure du peptide C après stimulation par du glucose intraveineux) à 6, 12, 18 et même 48 mois (Keymeulen et coll. soumis pour publication) après le traitement. Cet effet se traduit également par une diminution significative des doses d'insuline exogène nécessaires au maintien d'un bon contrôle métabolique (Keymeulen et coll., 2005).

La possibilité de restaurer la tolérance vis-à-vis des antigènes du soi grâce aux anticorps anti-CD3 représente une étape importante du développement de l'immunothérapie à visée « pro-toléro-gène ». Les données expérimentales indiquent clairement que les anticorps anti-CD3 suscitent un effet thérapeutique lié à l'activation par l'antigène, comme le montre leur capacité de stimuler sélectivement des cellules Treg adaptatives dépendantes du TGF- $\beta$ .

Au vu de ces résultats, l'utilisation des anticorps anti-CD3 pourrait s'étendre rapidement à d'autres indications et en particulier à la transplantation où il est désormais envisageable de les utiliser non plus comme simples immunosuppresseurs, comme cela avait été fait dans les années 1980, mais comme agents inducteurs de tolérance immunitaire.

## Stratégies de thérapie cellulaire

La culture *in vitro* de sous-populations spécialisées de cellules immunitaires pouvant être injectées chez les patients transplantés dans un but de conditionnement représente une thérapeutique émergente qui a grandement bénéficié de l'expérience acquise en immunothérapie des tumeurs. Les deux types cellulaires qui suscitent le plus grand intérêt sont les cellules dendritiques toléro-gènes et les cellules Treg.

Les cellules dendritiques ont une très forte capacité de stimuler les réponses immunitaires mais lorsqu'elles sont manipulées *in vitro* de manière adéquate, elles peuvent exprimer de puissantes capacités toléro-gènes qui se traduisent par une capacité à supprimer *in vivo* les réponses auto-immunes. Nombreux sont les facteurs qui influencent la capacité toléro-gène des cellules dendritiques à savoir, le type de cellule dendritique considérée (cellule dendritique

myéloïde ou plasmacytoïde), leur degré de différenciation/maturation (les cellules dendritiques immatures ou « semi-matures » sont tolérogènes alors que les cellules dendritiques matures sont immunogènes) et le type de manipulation utilisée. Parmi les procédés *in vitro* les plus étudiés permettant de dériver des cellules dendritiques tolérogènes, on retrouve entre autres le traitement par le CTLA-4Ig, l'IL-10, la vitamine D3 ou le TGF- $\beta$ . Les mécanismes cellulaires et moléculaires qui sous-tendent la capacité des cellules dendritiques tolérogènes de moduler les réponses immunes varient en fonction du modèle. Ils incluent essentiellement la capacité des cellules dendritiques de stimuler des mécanismes de tolérance périphérique tels que l'anergie lymphocytaire, la déviation immune ou encore l'induction de cellules Treg. Fait important à souligner : si la plupart des études se sont concentrées sur l'utilisation des cellules dendritiques provenant du donneur, il existe également des données montrant la forte capacité immunorégulatrice de cellules dendritiques de phénotype receveur lorsqu'elles sont prétraitées de manière adéquate.

Une autre option est la culture et la multiplication des cellules T régulatrices. Ainsi, des données récentes montrent que des cellules Treg naturelles ou adaptatives peuvent être cultivées *in vitro* dans le but d'augmenter le nombre de ces cellules tout en conservant leurs capacités de suppression.

**En conclusion**, les progrès accomplis au cours de ces dernières années dans la compréhension des mécanismes immunitaires qui sous-tendent la tolérance au « soi » sont gigantesques. C'est en exploitant ces mêmes mécanismes, que le système immunitaire utilise chaque jour pour nous protéger de la survenue de pathologies auto-immunes, qu'il est possible d'induire une tolérance immunitaire vis-à-vis d'antigènes étrangers tels que les alloantigènes. Dans le domaine expérimental, y compris chez les primates non humains, l'induction d'une tolérance d'allogreffe n'est plus un mythe et les premiers résultats cliniques, bien que préliminaires, sont désormais disponibles. Des outils thérapeutiques permettant de franchir ce cap important sont accessibles. Il faut maintenant investir de manière beaucoup plus importante et rationnelle sur la mise en place et, surtout, la validation de marqueurs immunologiques permettant de détecter la tolérance immunitaire. C'est l'accès à de tels marqueurs qui nous permettra de réaliser à plus grande échelle des protocoles thérapeutiques visant une tolérance d'allogreffe incluant des patients sélectionnés et dans un contexte éthique adéquat.

## BIBLIOGRAPHIE

ABRAMOWICZ D, SCHANDENE L, GOLDMAN M, CRUSIAUX A, VEREERSTRAETEN P, et coll. Release of tumor necrosis factor, interleukin-2, and gamma-interferon in serum after injection of OKT3 monoclonal antibody in kidney transplant recipients. *Transplantation* 1989, **47** : 606-608

ABRAMOWICZ D, VANDERVORST P, BRUYNS C, DOUTRELEPONT JM, VANDENABEELE P, GOLDMAN M. Persistence of anti-donor allohelper T cells after neonatal induction of allotolerance in mice. *Eur J Immunol* 1990, **20** : 1647-1653

ALEGRE ML, PETERSON LJ, XU D, SATTAR HA, JEYARAJAH DR, KOWALKOWSKI K, et coll. A non-activating "humanized" anti-CD3 monoclonal antibody retains immunosuppressive properties in vivo. *Transplantation* 1994, **57** : 1537-1543

BACH JF, CHATENOU L. Tolerance to islet autoantigens in type 1 diabetes. *Annu Rev Immunol* 2001, **19** : 131-161

BELGHITH M, BLUESTONE JA, BARRIOT S, MEGRET J, BACH JF, CHATENOU L. TGF-beta-dependent mechanisms mediate restoration of self-tolerance induced by antibodies to CD3 in overt autoimmune diabetes. *Nat Med* 2003, **9** : 1202-1208

BILLINGHAM RE, BRENT L, MEDAWAR PB. Actively acquired tolerance to foreign cells. *Nature* 1953, **172** : 603-606

BLUESTONE JA, ABBAS AK. Natural versus adaptive regulatory T cells. *Nat Rev Immunol* 2003, **3** : 253-257

BOLT S, ROUTLEDGE E, LLOYD I, CHATENOU L, POPE H, et coll. The generation of a humanized, non-mitogenic CD3 monoclonal antibody which retains in vitro immunosuppressive properties. *Eur J Immunol* 1993, **23** : 403-411

BOUMPAS DT, FURIE R, MANZI S, ILLEI GG, WALLACE DJ, et coll. A short course of BG9588 (anti-CD40 ligand antibody) improves serologic activity and decreases hematuria in patients with proliferative lupus glomerulonephritis. *Arthritis Rheum* 2003, **48** : 719-727

BRENT L, COURTENAY T, GOWLAND G. Immunological reactivity of lymphoid cells after treatment with anti-lymphocytic serum. *Nature* 1967, **215** : 1461-1464

BUSHELL A, KARIM M, KINGSLEY CI, WOOD KJ. Pretransplant blood transfusion without additional immunotherapy generates CD25+CD4+ regulatory T cells: a potential explanation for the blood-transfusion effect. *Transplantation* 2003, **76** : 449-455

CHATENOU L. CD3-specific antibody-induced active tolerance: from bench to bedside. *Nat Rev Immunol* 2003, **3** : 123-132

CHATENOU L, BAUDRIHAYE MF, CHKOFF N, KREIS H, GOLDSTEIN G, BACH JF. Restriction of the human in vivo immune response against the mouse monoclonal antibody OKT3. *J Immunol* 1986, **137** : 830-838

CHATENOU L, FERRAN C, REUTER A, LEGENDRE C, GEVAERT Y, et coll. Systemic reaction to the anti-T-cell monoclonal antibody OKT3 in relation to serum levels of tumor necrosis factor and interferon-gamma. *N Engl J Med* 1989, **320** : 1420-1421



CHATENOUD L, FERRAN C, LEGENDRE C, THOUARD I, MERITE S, et coll. In vivo cell activation following OKT3 administration. Systemic cytokine release and modulation by corticosteroids. *Transplantation* 1990, **49** : 697-702

CHATENOUD L, THERVET E, PRIMO J, BACH JF. Anti-CD3 antibody induces long-term remission of overt autoimmunity in nonobese diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994, **91** :123-127

CHATENOUD L, PRIMO J, BACH JF. CD3 antibody-induced dominant self tolerance in overtly diabetic NOD mice. *J Immunol* 1997, **158** : 2947-2954

CHEN W, JIN W, HARDEGEN N, LEI KJ, LI L, MARINOS N, et coll. Conversion of peripheral CD4+CD25- naive T cells to CD4+CD25+ regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med* 2003, **198** : 1875-1886

CLEVERS H, ALARCON B, WILEMAN T, TERHORST C. The T cell receptor/CD3 complex: a dynamic protein ensemble. *Annu Rev Immunol* 1988, **6** : 629-662

COBBOLD S, WALDMANN H. Infectious tolerance. *Curr Opin Immunol* 1998, **10** : 518-524

COBBOLD SP, QIN S, LEONG LY, MARTIN G, WALDMANN H. Reprogramming the immune system for peripheral tolerance with CD4 and CD8 monoclonal antibodies. *Immunol Rev* 1992, **129** : 165-201

COBBOLD SP, CASTEJON R, ADAMS E, ZELENKA D, GRACA L, et coll. Induction of foxP3+ regulatory T cells in the periphery of T cell receptor transgenic mice tolerized to transplants. *J Immunol* 2004, **172** : 6003-6010

COBBOLD SP, ADAMS E, GRACA L, DALEY S, YATES S, et coll. Immune privilege induced by regulatory T cells in transplantation tolerance. *Immunol Rev* 2006, **213** : 239-255

COSIMI AB. Clinical development of Orthoclone OKT3. *Transplant Proc* 1987, **19** (2 suppl 1) : 7-16

COSIMI AB, BURTON RC, COLVIN RB, GOLDSTEIN G, DELMONICO FL, et coll. Treatment of acute renal allograft rejection with OKT3 monoclonal antibody. *Transplantation* 1981a, **32** : 535-539

COSIMI AB, COLVIN RB, BURTON RC, RUBIN RH, GOLDSTEIN G, et coll. Use of monoclonal antibodies to T-cell subsets for immunologic monitoring and treatment in recipients of renal allografts. *N Engl J Med* 1981b, **305** : 308-314

DAVIS MM, CHIEN YH. T cell antigen receptors. In : *Fundamental Immunology*. PAUL W (ed). Raven Press, New York, 1999 : 341-366

DAVIS JC, JR., TOTORITIS MC, ROSENBERG J, SKLENAR TA, WOFSY D. Phase I clinical trial of a monoclonal antibody against CD40-ligand (IDEC-131) in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2001, **28** : 95-101

DEBURE A, CHKOFF N, CHATENOU L, LACOMBE M, CAMPOS H, et coll. One-month prophylactic use of OKT3 in cadaver kidney transplant recipients. *Transplantation* 1988, **45** : 546-553

EASON JD, COSIMI AB. Biologic immunosuppressive agents. In : Transplantation. GINNS L, COSIMI A, MORRIS P (eds). Blackwell Science, Malden, USA, 1999 : 196-224

FINCK BK, LINSLEY PS, WOFYSY D. Treatment of murine lupus with CTLA4Ig. *Science* 1994, **265** : 1225-1227

FONTENOT JD, GAVIN MA, RUDENSKY AY. Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nat Immunol* 2003, **4** : 330-336

GERSHON RK, KONDO K. Infectious immunological tolerance. *Immunology* 1971, **21** : 903-914

GRACA L, COBBOLD SP, WALDMANN H. Identification of regulatory T cells in tolerated allografts. *J Exp Med* 2002, **195** : 1641-1646

HAYWARD AR, SHREIBER M. Neonatal injection of CD3 antibody into nonobese diabetic mice reduces the incidence of insulinitis and diabetes. *J Immunol* 1989, **143** : 1555-1559

HEROLD KC, HAGOPIAN W, AUGER JA, POUMIAN RUIZ E, TAYLOR L, et coll. Anti-CD3 monoclonal antibody in new-onset type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2002, **346** : 1692-1698

HEROLD KC, GITELMAN SE, MASHARANI U, HAGOPIAN W, BISIKIRSKA B, et coll. A single course of anti-CD3 monoclonal antibody hOKT3gamma1(Ala-Ala) results in improvement in C-peptide responses and clinical parameters for at least 2 years after onset of type 1 diabetes. *Diabetes* 2005, **54** : 1763-1769

HORI S, NOMURA T, SAKAGUCHI S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 2003, **299** : 1057-1061

KALUNIAN KC, DAVIS JC, JR., MERRILL JT, TOTORITIS MC, WOFYSY D. Treatment of systemic lupus erythematosus by inhibition of T cell costimulation with anti-CD154: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 2002, **46** : 3251-3258

KAWAI T, COSIMI AB, SPITZER TR, TOLKOFF-RUBIN N, SUTHANTHIRAN M, et coll. HLA-mismatched renal transplantation without maintenance immunosuppression. *N Engl J Med* 2008, **358** : 353-361

KEYMEULEN B, VANDEMEULEBROUCKE E, ZIEGLER AG, MATHIEU C, KAUFMAN L, et coll. Insulin needs after CD3-antibody therapy in new-onset type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2005, **352** : 2598-2608

KHATTRI R, COX T, YASAYKO SA, RAMSDELL F. An essential role for Scurfin in CD4+CD25+ T regulatory cells. *Nat Immunol* 2003, **4** : 337-342

KIRK AD, BURKLY LC, BATTY DS, BAUMGARTNER RE, BERNING JD, et coll. Treatment with humanized monoclonal antibody against CD154 prevents acute renal allograft rejection in nonhuman primates. *Nat Med* 1999, **5** : 686-693

KISIELOW P, BLUTHMANN H, STAERZ UD, STEINMETZ M, VON BOEHMER H. Tolerance in T-cell-receptor transgenic mice involves deletion of nonmature CD4+8+ thymocytes. *Nature* 1988, **333** : 742-746

KUWANA M, NOMURA S, FUJIMURA K, NAGASAWA T, MUTO Y, et coll. Effect of a single injection of humanized anti-CD154 monoclonal antibody on the platelet-specific autoimmune response in patients with immune thrombocytopenic purpura. *Blood* 2004, **103** : 1229-1233

LAKKIS FG, KONIECZNY BT, SALEEM S, BADDOURA FK, LINSLEY PS, et coll. Blocking the CD28-B7 T cell costimulation pathway induces long term cardiac allograft acceptance in the absence of IL-4. *J Immunol* 1997, **158** : 2443-2448

LANG KS, RECHER M, JUNT T, NAVARINI AA, HARRIS NL, et coll. Toll-like receptor engagement converts T-cell autoreactivity into overt autoimmune disease. *Nat Med* 2005, **11** : 138-145

LARSEN CP, PEARSON TC. The CD40 pathway in allograft rejection, acceptance, and tolerance. *Curr Opin Immunol* 1997, **9** : 641-647

LARSEN CP, ELWOOD ET, ALEXANDER DZ, RITCHIE SC, HENDRIX R, et coll. Long-term acceptance of skin and cardiac allografts after blocking CD40 and CD28 pathways. *Nature* 1996, **381** : 434-438

LENSCHOW DJ, ZENG Y, THISTLETHWAITE JR, MONTAG A, BRADY W, et coll. Long-term survival of xenogeneic pancreatic islet grafts induced by CTLA4Ig. *Science* 1992, **257** : 789-792

LIN H, BOLLING SF, LINSLEY PS, WEI RQ, GORDON D, et coll. Long-term acceptance of major histocompatibility complex mismatched cardiac allografts induced by CTLA4Ig plus donor-specific transfusion. *J Exp Med* 1993, **178** : 1801-1806

LINSLEY PS, BRADY W, URNES M, GROSMAN LS, DAMLE NK, LEDBETTER JA. CTLA-4 is a second receptor for the B cell activation antigen B7. *J Exp Med* 1991, **174** : 561-569

LINSLEY PS, WALLACE PM, JOHNSON J, GIBSON MG, GREENE JL, et coll. Immunosuppression in vivo by a soluble form of the CTLA-4 T cell activation molecule. *Science* 1992, **257** : 792-795

LYON MF, PETERS J, GLENISTER PH, BALL S, WRIGHT E. The scurfy mouse mutant has previously unrecognized hematological abnormalities and resembles Wiskott-Aldrich syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990, **87** : 2433-2437

MILLER A, LIDER O, AL-SABBAGH A, WEINER HL. Suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis by oral administration of myelin basic protein. V. Hierarchy of suppression by myelin basic protein from different species. *J Neuroimmunol* 1992, **39** : 243-250

MONACO AP, WOOD ML, RUSSELL PS. Studies on heterologous antilymphocyte serum in mice. III. Immunological tolerance and chimerism produced across the H2-locus with adult thymectomy and antilymphocyte serum. *Ann N Y Acad Sci* 1966, **129** : 190-209

MURAKAMI T, COSIMI AB, KAWAI T. Mixed chimerism to induce tolerance: lessons learned from nonhuman primates. *Transplant Rev (Orlando)* 2009, **23** : 19-24

NICOLLS MR, AVERSA GG, PEARCE NW, SPINELLI A, BERGER MF, et coll. Induction of long-term specific tolerance to allografts in rats by therapy with an anti-CD3-like monoclonal antibody. *Transplantation* 1993, **55** : 459-468

NIIMI M, PEARSON TC, LARSEN CP, ALEXANDER DZ, HOLLENBAUGH D, et coll. The role of the CD40 pathway in alloantigen-induced hyporesponsiveness in vivo. *J Immunol* 1998, **161** : 5331-5337

NOSSAL GJ. Cellular mechanisms of immunologic tolerance. *Annu Rev Immunol* 1983, **1** : 33-62

NOSSAL GJ. Negative selection of lymphocytes. *Cell* 1994, **76** : 229-239

NUSSENBLATT RB, CASPI RR, MAHDI R, CHAN CC, ROBERGE F, et coll. Inhibition of S-antigen induced experimental autoimmune uveoretinitis by oral induction of tolerance with S-antigen. *J Immunol* 1990, **144** : 1689-1695

OHASHI PS, OEHEN S, BUERKI K, PIRCHER H, OHASHI CT, et coll. Ablation of "tolerance" and induction of diabetes by virus infection in viral antigen transgenic mice. *Cell* 1991, **65** : 305-317

ONODERA K, CHANDRAKER A, SCHAUB M, STADLBAUER TH, KOROM S, et coll. CD28-B7 T cell costimulatory blockade by CTLA4Ig in sensitized rat recipients: induction of transplantation tolerance in association with depressed cell-mediated and humoral immune responses. *J Immunol* 1997, **159** : 1711-1717

ORTHO X. A randomized clinical trial of OKT3 monoclonal antibody for acute rejection of cadaveric renal transplants. Ortho Multicenter Transplant Study Group. *N Engl J Med* 1985, **313** : 337-342

PASCUAL M, THERUVATH T, KAWAI T, TOLKOFF-RUBIN N, COSIMI AB. Strategies to improve long-term outcomes after renal transplantation. *N Engl J Med* 2002, **346** : 580-590

PLAIN KM, CHEN J, MERTEN S, HE XY, HALL BM. Induction of specific tolerance to allografts in rats by therapy with non-mitogenic, non-depleting anti-CD3 monoclonal antibody: association with TH2 cytokines not anergy. *Transplantation* 1999, **67** : 605-613

QIN SX, COBBOLD S, BENJAMIN R, WALDMANN H. Induction of classical transplantation tolerance in the adult. *J Exp Med* 1989, **169** : 779-794

QIN S, COBBOLD SP, POPE H, ELLIOTT J, KIOUSSIS D, et coll. "Infectious" transplantation tolerance. *Science* 1993, **259** : 974-977

READ S, MALMSTROM V, POWRIE F. Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 plays an essential role in the function of CD25(+)CD4(+) regulatory cells that control intestinal inflammation. *J Exp Med* 2000, **192** : 295-302

RIECHMANN L, CLARK M, WALDMANN H, WINTER G. Reshaping human antibodies for therapy. *Nature* 1988, **332** : 323-327

RONCAROLO MG, GREGORI S, BATTAGLIA M, BACCHETTA R, FLEISCHHAUER K, LEVINGS MK. Interleukin-10-secreting type 1 regulatory T cells in rodents and humans. *Immunol Rev* 2006, **212** : 28-50

SAKAGUCHI S. Regulatory T cells: Key controllers of immunologic self-tolerance. *Cell* 2000, **101** : 455-458

SAKAGUCHI S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nat Immunol* 2005, **6** : 345-352

SETOGUCHI R, HORI S, TAKAHASHI T, SAKAGUCHI S. Homeostatic maintenance of natural Foxp3(+) CD25(+) CD4(+) regulatory T cells by interleukin (IL)-2 and induction of autoimmune disease by IL-2 neutralization. *J Exp Med* 2005, **201** : 723-735

SPITZER TR, MCAFEE SL, DEY BR, COLBY C, HOPE J, et coll. Nonmyeloablative haploidentical stem-cell transplantation using anti-CD2 monoclonal antibody (MEDI-507)-based conditioning for refractory hematologic malignancies. *Transplantation* 2003, **75** : 1748-1751

SYKES M, SACHS DH. Bone marrow transplantation as a means of inducing tolerance. *Semin Immunol* 1990, **2** : 401-417

SYKES M, SHEARD M, SACHS DH. Effects of T cell depletion in radiation bone marrow chimeras. I. Evidence for a donor cell population which increases allogeneic chimerism but which lacks the potential to produce GVHD. *J Immunol* 1988, **141** : 2282-2288

TAKAHASHI T, TAGAMI T, YAMAZAKI S, UEDE T, SHIMIZU J, et coll. Immunologic self-tolerance maintained by CD25(+)CD4(+) regulatory T cells constitutively expressing cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4. *J Exp Med* 2000, **192** : 303-310

VIGERAL P, CHKOFF N, CHATENOU D, CAMPOS H, LACOMBE M, et coll. Prophylactic use of OKT3 monoclonal antibody in cadaver kidney recipients. Utilization of OKT3 as the sole immunosuppressive agent. *Transplantation* 1986, **41** : 730-733

VINCENTI F, LARSEN C, DURRBACH A, WEKERLE T, NASHAN B, et coll. Costimulation blockade with belatacept in renal transplantation. *N Engl J Med* 2005, **353** : 770-781

WALDMANN H, CHEN TC, GRACA L, ADAMS E, DALEY S, et coll. Regulatory T cells in transplantation. *Seminars in Immunology* 2006, **18** : 111-119

WALDMANN H. Transplantation tolerance-where do we stand? *Nat Med* 1999, **5** : 1245-1248

WEKERLE T, KURTZ J, BIGENZAHN S, TAKEUCHI Y, SYKES M. Mechanisms of transplant tolerance induction using costimulatory blockade. *Curr Opin Immunol* 2002, **14** : 592-600

WILDIN RS, SMYK-PEARSON S, FILIPOVICH AH. Clinical and molecular features of the immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X linked (IPEX) syndrome. *J Med Genet* 2002, **39** : 537-545

WILLIAMS RO, FELDMANN M, MAINI RN. Anti-tumor necrosis factor ameliorates joint disease in murine collagen-induced arthritis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992, **89** : 9784-9788

WOOD KJ, SAWITZKI B. Interferon gamma: a crucial role in the function of induced regulatory T cells in vivo. *Trends Immunol* 2006, **27** : 183-187

WOOD ML, MONACO AP, GOZZO JJ, LIEGEOIS A. Use of homozygous allogeneic bone marrow for induction of tolerance with antilymphocyte serum: dose and timing. *Transplant Proc* 1971, **3** : 676-679

WOOD KJ, LUO S, AKL A. Regulatory T cells: potential in organ transplantation. *Transplantation* 2004, **77** (1 suppl) : S6-S8

WU Y, BORDE M, HEISSMEYER V, FEUERER M, LAPAN AD, et coll. FOXP3 controls regulatory T cell function through cooperation with NFAT. *Cell* 2006, **126** : 375-387

YOU S, THIEBLEMONT N, ALYANAKIAN MA, BACH JF, CHATENOU L. Transforming growth factor-beta and T-cell-mediated immunoregulation in the control of autoimmune diabetes. *Immunol Rev* 2006, **212** : 185-202

YOU S, LEFORBAN B, GARCIA C, BACH JF, BLUESTONE JA, CHATENOU L. Adaptive TGF- $\beta$ -dependent regulatory T cells control autoimmune diabetes and are a privileged target of anti-CD3 antibody treatment. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007, **104** : 6335-6340



# 2

## Origines et mécanismes du rejet aigu et hyperaigu

Le rejet aigu d'allogreffe reste un problème majeur en transplantation d'organes solides car il peut conduire à une perte de fonction de la greffe, aiguë ou chronique. Deux mécanismes immunologiques généraux sont mis en jeu au cours du rejet aigu d'allogreffe : la réponse innée non spécifique, qui prédomine dans la phase précoce de la réponse immune, et la réponse alloréactive (ou réponse adaptative), spécifique du donneur et résultant de la reconnaissance des alloantigènes par les lymphocytes T du receveur.

### Classification des rejets aigus

Les rejets aigus d'allogreffes peuvent se classer en rejet hyperaigu et rejet aigu.

#### Rejet hyperaigu

Le rejet hyperaigu apparaît dans les minutes suivant l'introduction du greffon dans l'organisme et concerne uniquement les greffes vascularisées. Ce rejet, très rapide, est caractérisé par une thrombose des vaisseaux qui provoque la nécrose du greffon. Le rejet hyperaigu est dû à la présence chez le receveur d'anticorps anti-donneur préformés (Cai et Terasaki, 2005a et b). Il n'y a pas dans ce cas d'infiltration cellulaire au niveau du greffon. Les anticorps entraînent l'activation du complément et une stimulation de la cellule endothéliale qui va sécréter, entre autres, le facteur pro-coagulant Von Willebrand provoquant l'adhésion et l'agrégation des plaquettes. Cette série de réactions va alors engendrer une thrombose intravasculaire aboutissant à la formation des lésions et à la perte du greffon (Cai et Terasaki, 2005a et b). Ces anticorps préformés sont naturels (comme les anticorps anti-A et B des groupes sanguins) ou acquis lors de situations immunogènes antérieures telles que transfusions, grossesses ou greffe. Les anticorps acquis reconnaissent notamment des déterminants du CMH (complexe majeur



d'histocompatibilité), anticorps anti-HLA (*Human Leukocyte Antigen*) chez l'homme.

De nos jours, ce type de rejet est évité dans la majorité des cas par l'analyse des compatibilités HLA entre le donneur et le receveur.

## Rejet aigu

Le rejet aigu est dû à la réaction du système immunitaire contre le greffon et peut survenir de une semaine à plusieurs mois après la transplantation. Le rejet aigu cellulaire nécessite une immunisation et met donc plusieurs jours à survenir. Il est diagnostiqué par une biopsie de l'organe greffé et les lésions observées font l'objet de classifications internationales (classification de Banff pour le rein) (Marks et Finke, 2006). Actuellement, grâce aux traitements immunosuppresseurs, les épisodes de rejet aigu surviennent dans moins de 15 % des transplantations (Port et coll., 2004) chez les patients non immunisés.

Le rejet aigu peut être le résultat de deux mécanismes immunologiques qui peuvent agir seuls ou ensemble (Marks et Finke, 2006) :

- un processus dépendant des lymphocytes T, qui correspond au rejet cellulaire aigu ;
- un processus dépendant des lymphocytes B générant le rejet humoral aigu.

Le rejet aigu cellulaire est dû à la reconnaissance par les lymphocytes T du receveur des antigènes allogéniques du donneur dans un contexte CMH (du donneur et du receveur). Après transplantation, les cellules dendritiques du donneur migrent vers les organes lymphoïdes secondaires du receveur où elles vont activer les cellules T du receveur par présentation directe et indirecte. Les lymphocytes T ainsi activés prolifèrent puis migrent vers le greffon où ils sont attirés par les molécules d'adhésion exprimées par l'endothélium devenu inflammatoire.

## Réponse adaptative et rejet d'allogreffe

Les lymphocytes T jouent un rôle central dans l'initiation des mécanismes du rejet d'allogreffe. La réponse alloréactive contre le greffon peut être divisée en trois phases successives : la reconnaissance des alloantigènes par les lymphocytes T naïfs de l'hôte, l'activation et l'expansion des cellules T alloréactives et la phase effectrice de rejet. Lors de la réponse adaptative, différents antigènes du donneur peuvent être reconnus par le système immunitaire de l'hôte :

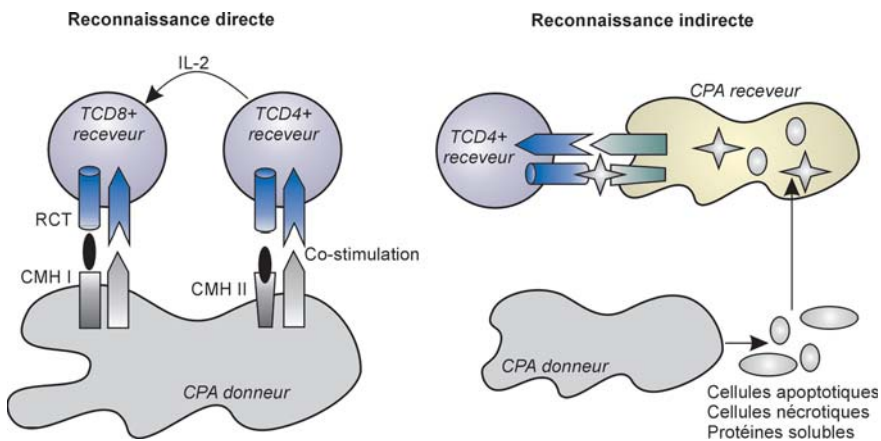
- les alloantigènes majeurs représentés par les molécules de classe I et II du CMH, HLA chez l'homme ;

- les alloantigènes mineurs : allopeptides présentés par les molécules de classe I ou II ;
- les autres antigènes reconnus par leur réaction croisée avec les antigènes du greffon, comme des autoantigènes ou des antigènes viraux.

La reconnaissance des alloantigènes par les cellules T peut se faire par deux voies différentes non exclusives (figure 2.1) :

- la reconnaissance directe (unique à la transplantation) : les cellules T reconnaissent le complexe CMH/peptide du donneur sur la surface des cellules présentatrices de l'antigène (CPA) du donneur. Le peptide associé au CMH de classe I est préférentiellement reconnu par les cellules T CD8<sup>+</sup> et le peptide associé au CMH de classe II par les cellules T CD4<sup>+</sup> ;
- la reconnaissance indirecte, les antigènes du donneur sont internalisés et transformés par les CPA du receveur, puis présentés au niveau des molécules du CMH de classe II et classe I (présentation croisée) du receveur et reconnus par les cellules T.

Une troisième voie a été récemment proposée par le groupe de R. Lechler, la voie semi-directe. Par un mécanisme de « passage » entre les membranes des CPA du donneur et du receveur, le CMH du donneur est reconnu à la surface des CPA du receveur (Herrera et coll., 2004).



**Figure 2.1 : Voies de reconnaissance des alloantigènes par les lymphocytes T (Golshayan et coll., 2007)**

CMH : complexe majeur d'histocompatibilité ; CPA : cellule présentatrice de l'antigène ; RCT : récepteur de cellule T ; T CD8<sup>+</sup> et T CD4<sup>+</sup> : lymphocytes T CD8<sup>+</sup> et T CD4<sup>+</sup>

## Réponse innée et rejet d'allogreffe

Bien que la réponse T adaptative joue un rôle central dans les mécanismes du rejet d'allogreffe, il a été récemment reconnu que les médiateurs pro-inflammatoires précoces (induits avant le début de la réponse T) ont également un rôle important dans ce processus. L'inflammation est due à la réponse immune innée déclenchée par le stress tissulaire, en absence d'infection et indépendamment de la réponse adaptative (Christopher et coll., 2002 ; He et coll., 2002 et 2003 ; Land, 2005). En effet, il a été montré que, un jour après une greffe cardiaque, l'expression de gènes codant pour des molécules liées à l'inflammation (cytokines pro-inflammatoires, chimiokines, composants de l'infiltrat cellulaire) était similaire chez les souris normales et chez les souris comportant une mutation dans le gène *Rag* (*Recombinase activating gene*) et déficientes en cellules T (He et coll., 2002). Ces auteurs ont également montré que la réponse innée est indépendante de l'antigène, qu'elle se développe précocement après transplantation et conditionne le développement de la réponse adaptative (He et coll., 2002).

Les cellules impliquées dans la réponse innée expriment des récepteurs PRRs (*Pattern Recognition Receptors*) dont la spécificité est génétiquement déterminée et qui sont classés en plusieurs groupes selon leur structure :

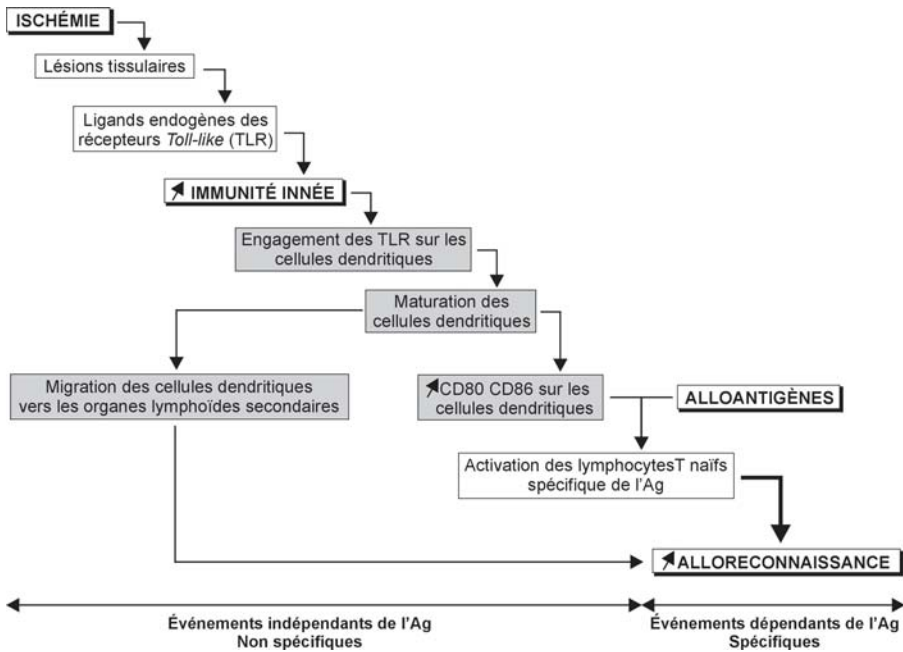
- les TLRs (*Toll-Like Receptors*) ;
- les NLRs (*NOD-Like Receptors*) ;
- les RLHs (*RIG-Like Helicases*) ;
- le récepteur RAGE (*Advanced glycosylation end product receptor*) ;
- les autres récepteurs comme les récepteurs éboueurs (*Scavenger receptors*), la lectine spécifique du mannose (*Mannose binding lectin*), le récepteur du complément, Dectin-1.

Les PRRs permettent de reconnaître des molécules issues du « danger » comme :

- les ligands exogènes PAMPs (*Pathogen-Associated Molecular Patterns*) (Janeway et Medzhitov, 2002) ;
- les ligands endogènes DAMPs (*Damage-Associated Molecular Patterns*) (Mollen et coll., 2006).

Immédiatement après transplantation, des lésions du greffon causées par les procédures de prélèvement et d'ischémie/reperfusion, et indépendantes de l'alloantigène, induisent une immunogénicité de l'organe par les signaux de danger qui vont activer les cellules dendritiques (CD), CPA du donneur (LaRosa et coll., 2007) (figure 2.2). La voie directe de l'allorecognition est mise en jeu et les CD du greffon (leucocytes passagers) vont se différencier en réponse aux stimuli donnés par les PAMPs et les DAMPs, puis migrer vers les régions T des organes lymphoïdes du receveur. De cette façon, les cellules T naïves alloréactives vont être stimulées, devenir des effecteurs et migrer dans le greffon. D'autres cellules de l'immunité innée

comme les neutrophiles, les macrophages et les cellules NK (*Natural Killer*) vont rapidement infiltrer la greffe en réponse aux stimuli inflammatoires. Au niveau du greffon, ces cellules vont contribuer à la formation des lésions soit directement soit à travers la production de molécules pro-inflammatoires. Ces cellules vont également aider à amplifier et maintenir la réponse immunitaire T adaptative.



**Figure 2.2 : Relation entre réponse immunitaire innée et réponse immunitaire adaptative en transplantation d'organes**

Ag : antigène

### Lésions et danger endogène en transplantation

Matzinger (1994) a proposé que le système immunitaire détecte et répond aux stimuli donnés par des molécules libérées pendant la lésion cellulaire provoquée par des micro-organismes ou d'autres stress. C'est le modèle de « danger ».

Il a été montré que le traitement de la greffe rénale avec la superoxyde dismutase recombinante humaine (qui réduit la production d'anions superoxyde) diminue l'incidence de rejet aigu et chronique d'allogreffe (Land et coll., 1994). D'autres agents antioxydants, actuellement utilisés en clinique comme l'edaravone (dans l'infarctus aigu du cerveau) et le mimétique de

SOD (*Superoxyde dismutase*) (dans l'extraction dentaire) ont été testés dans des modèles d'ischémie/reperfusion avec des résultats positifs sur la survie de l'allogreffe (Masini et coll., 2002 ; Tahara et coll., 2005). Récemment, il a été montré que chez le donneur de greffe, l'induction de HO-1 (hème oxygénase-1), un puissant antioxydant, avait un effet bénéfique sur la survie du greffon (Kotsch et coll., 2006).

Matzinger avait émis l'hypothèse qu'en l'absence de signaux de danger (PAMPs et DAMPs) il n'y aurait pas de rejet (tolérance par ignorance). Cette hypothèse reste difficile à prouver *in vivo* mais plusieurs groupes ont tenté de la tester. Des greffes réalisées sur des animaux déficients en cellules T ont été tolérées pendant une longue période de temps. À 50 jours, si le compartiment T est reconstruit, par transfert adoptif ou par greffe de moelle osseuse, les greffes d'organe sont rejetées. À 50 jours, histologiquement les greffons ont un aspect normal mais des analyses par Q-RT-PCR ont montré une expression faible de différentes molécules inflammatoires. Ces résultats montrent que des greffes tolérées chez des receveurs déficients en cellules T peuvent être rejetées par transfert adoptif de cellules T et suggèrent la persistance de signaux de danger même s'ils n'ont pas pu être clairement identifiés (Bingaman et coll., 2000 ; Anderson et Matzinger, 2001).

Chalasanani et coll. (2004) ont analysé le rôle de la réponse innée dans un modèle où les receveurs de greffe cardiaque sont splénectomisés et alymphoblastiques (les animaux ont des cellules T mais pas d'organes lymphoïdes secondaires, ils n'ont pas de stimulation primaire de cellules T naïves). Dans ce modèle, les allogreffes ne sont pas rejetées même après transfert adoptif de cellules T alloréactives activées. Cependant à 100 jours, des signes de rejet chronique se sont développés dans les allogreffes. En utilisant le même modèle, et en attendant 50 jours, les greffes ont été re-transplantées dans un deuxième receveur (identique au premier) et des cellules T allospécifiques ont été injectées ; les greffons ont été rejetés avec une cinétique plus longue. Ces résultats suggèrent que l'inflammation et le stress jouent un rôle dans les mécanismes de rejet aigu de greffe (Chalasanani et coll., 2004).

### **Récepteurs de l'immunité innée (PRRs) et rejet d'allogreffe**

Des receveurs et des donneurs déficients en certains récepteurs de la réponse innée comme les TLRs et aussi pour la molécule MyD88 (un adaptateur de la signalisation de tous les TLRs, sauf TLR3) ont été utilisés pour analyser le rôle de la signalisation TLR dans le rejet de greffe.

Il a été montré que des greffes de peau de souris femelles déficientes en MyD88 greffées sur des receveurs mâles aussi déficients en MyD88 étaient tolérées. En revanche, des greffes déficientes en TLR2, TLR4 et caspase 1 sont rejetées par les receveurs déficients pour la même molécule. Ces résultats

suggèrent que dans ce modèle le rejet est dépendant de MyD88 mais indépendant de TLR2 et TLR4, d'IL-1 et IL-18. La présence de MyD88 chez le donneur ou le receveur rétablit le rejet. Dans un modèle de greffe de peau ou de cœur incompatible, l'effet de MyD88 n'a pas été confirmé (Goldstein et coll., 2003 ; Goldstein et Tesar, 2004 ; Walker et coll., 2006).

### Ligands endogènes des PRRs et rejet d'allogreffe

Différents ligands endogènes des PRRs ont été étudiés pour leur rôle dans le rejet d'allogreffe. Le hyaluronan (HA) et ses produits de dégradation ont un effet agoniste sur la réponse immune innée. En effet, il a été montré que le hyaluronan faisait différencier les cellules dendritiques au travers de TLR2 et TLR4. *In vivo*, l'expression de hyaluronan a été retrouvée augmentée dans les greffes de peau une semaine après transplantation (Tesar et coll., 2006).

Des études faites chez les receveurs de greffe de poumon ont montré une augmentation de HA chez les patients qui ont développé un syndrome de bronchiolite oblitérante (BOS), comparativement aux patients chez qui cette pathologie n'est pas survenue (Hadjiliadis et coll., 2002).

L'heparan sulfate, un autre ligand endogène des PRRs, et ses métabolites induisent une maturation des CD qui est dépendante de TLR4 (Johnson et coll., 2002). Il a également été montré que l'extra domaine A de la fibronectine active le TLR4 (Okamura et coll., 2001). Par ailleurs, le biglycan a une activité pro-inflammatoire et active les TLR4 et TLR2 (Schaefer et coll., 2005). Les HSP (*Heat Shock Protein*) 60, 70, et gp96 sont également des ligands endogènes des TLR4 et/ou TLR2 (Ohashi et coll., 2000 ; Vabulas et coll., 2002a et b). La protéine nucléaire HMGB1 (*High-Mobility Group Box 1 protein*) (Yu M et coll., 2006) largement conservée est un ligand de TLR4 et/ou TLR2, et a été identifiée comme responsable de lésions d'ischémie/reperfusion dans un modèle de foie. Des niveaux élevés de HMGB1 sont détectés après reperfusion et l'inhibition de la protéine avec un anticorps neutralisant diminue les signes d'inflammation (Tsong et coll., 2005).

### Ligands exogènes des PRRs et rejet d'allogreffe

Après greffe cardiaque, les niveaux circulants d'endotoxine sont augmentés (Methe et coll., 2004). Fréquemment chez ces patients, il existe une infection pulmonaire ce qui expose l'organisme aux molécules dérivées des micro-organismes (PAMPs) (Palmer et coll., 2003).

La présence d'infections virales peut aussi modifier la réponse allogénique et le rejet de greffe chez les rongeurs et dans des essais cliniques (Kazory et Ducloux, 2005a et b).

## **Lésions d'ischémie/reperfusion (I/R), réponse innée et rejet d'allogreffe**

L'I/R peut être à l'origine de la défaillance organique immédiate, du rejet aigu et du rejet chronique. Il est en général admis que l'immunité innée joue un rôle important dans les mécanismes de l'I/R (Zhai et coll., 2004).

### ***Lésions d'ischémie/reperfusion et greffe de cœur***

L'expression de TLR4 est augmentée dans le myocarde murin et humain qui présente des lésions d'I/R. Comparées aux souris normales, les souris déficientes en TLR4 ont une diminution des lésions d'infarctus de myocarde ainsi qu'une réduction de l'activation des MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*), une diminution de la translocation de NF-1B dans le noyau et une réduction de l'expression des ARNm de l'IL-1 $\beta$  et de l'IL-6, démontrant le rôle de TLR4 dans les lésions d'I/R du myocarde (Oyama et coll., 2004 ; Moniwa et coll., 2006). L'utilisation d'antagonistes de TLR4 (eritoran) a été testée chez le rongeur dans le but de réduire les lésions d'I/R dans le cœur. Le traitement diminue de façon significative la taille de l'infarctus du myocarde comparé aux témoins non traités et réduit également l'activation de NF- $\kappa$ B et la production de cytokines pro-inflammatoires.

### ***Lésions d'ischémie/reperfusion et greffe de foie***

Dans le foie, le développement des lésions d'I/R semble impliquer l'activation du récepteur TLR4 qui est dépendante de IRF-3 et indépendante de MyD88 (Zhai et coll., 2004).

Les cellules de Kupffer sont activées par l'endotoxine re-larguée par la circulation portale après I/R. On observe une augmentation de l'expression d'ARNm de TLR4, de même qu'une production de TNF- $\alpha$  inhibée par les anticorps anti-TLR4 (Peng et coll., 2004).

### ***Lésions d'ischémie/reperfusion et greffe de rein***

Les TLR2 et TLR4 ont également été décrits jouant un rôle dans des modèles d'I/R rénale chez les rongeurs (Leemans et coll., 2005). L'expression des ARN messagers et des protéines TLR2 et TLR4 est augmentée au niveau des cellules tissulaires de l'organe (cellules épithéliales) mais pas dans les cellules du système immunitaire.

D'une façon intéressante chez l'homme, les receveurs hétérozygotes pour l'un des deux polymorphismes TLR4 (ASP299Gly ou Thr399Ile) présentent une hypo-réponse au LPS (lipopolysaccharide) et une diminution de la fréquence des rejets aigus. Ces effets sont limités au receveur, le génotype du donneur n'ayant aucune incidence (Palmer et coll., 2003, 2005, 2006 et 2007).

Des résultats similaires ont été obtenus chez les receveurs de greffe rénale (Ducloux et coll., 2005).

## Effecteurs cellulaires et moléculaires du rejet d'allogreffe

De nombreux types cellulaires et moléculaires sont impliqués dans le rejet aigu d'allogreffe.

### Migration et infiltration des allogreffes : rôle des chimiokines

L'attraction de cellules mononuclées aux sites de l'inflammation nécessite une étroite interaction des signaux inflammatoires et des chimiokines. L'inhibition des chimiokines et de leurs récepteurs a montré une prolongation de la survie de l'allogreffe (Hancock, 2003). En particulier, les récepteurs des chimiokines comme CXCR3 et CCR5, dont l'expression est induite après activation des cellules T, jouent un rôle dans la migration de ces cellules (Hancock et coll., 2000a et b ; Gao et coll., 2001 ; Zhai et coll., 2006).

Une étude récente a montré, dans un modèle de greffe cardiaque, un effet de MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*) et CXCR3 dans la survie de la greffe seulement quand le receveur (et non le donneur) était déficient pour ces molécules (Haskova et coll., 2007).

Dans une étude chez l'homme, le nombre de cellules CXCR3+ dans une biopsie rénale augmente avec le rejet de greffe et diminue avec le traitement immunosuppresseur, ce qui suggère que CXCR3 pourrait être une bonne cible de traitement du rejet (Hoffmann et coll., 2006). Des résultats similaires ont été obtenus pour CXCR3 et CCR5 par un autre groupe (Panzer et coll., 2004).

Dans un modèle de greffe de poumon, il a été montré que durant le rejet aigu l'expression de CXCL9 augmentait parallèlement à l'infiltration des cellules mononucléaires exprimant CXCR3+, un récepteur de chimiokine liant CXCL9. L'inhibition de CXCL9 diminue l'infiltrat cellulaire et l'expression de CXCR3, conduisant à une réduction du rejet aigu (Belperio et coll., 2003).

L'inhibition de CCR5 et CXCR3 avec un antagoniste de CCR5, TAK-779 dans un modèle de greffe cardiaque prolonge significativement la survie d'allogreffe (rejet aigu et également chronique), ce qui confirme le rôle de CCR5 et CXCR3 dans le rejet (Akashi et coll., 2005).

Dans un modèle de greffe d'îlots chez la souris, il a été montré que l'expression de CCR2 augmentait après greffe. Quand le receveur était déficient en CCR2, une prolongation significative de la survie des îlots et une diminution de la réponse TH1 (*T helper-1*) a été décrite. Dans la même combinaison, aucun effet sur une greffe cardiaque n'a été observé. Ces résultats suggèrent une spécificité de tissu et de chimiokine dans la régulation de la réponse allospécifique et du rejet de greffe (Schroppel et coll., 2004).



L'inhibition de deux chimiokines, RANTES<sup>1</sup> et de MCP-1<sup>2</sup>, par thérapie génique prolonge la survie d'une greffe cardiaque (Fleury et coll., 2006).

### Cellules effectrices

Plusieurs types cellulaires ont un rôle important dans le rejet aigu d'allo-greffe (Alegre et coll., 2007). Les cellules T CD4 jouent un rôle central dans le déclenchement de la réponse immune qui fait intervenir les cellules T CD4 Th1, Th2 et Th17. Les cellules T CD8 sont aussi importantes dans le rejet d'allo-greffe. Ainsi, les T CD8 cytotoxiques jouent un rôle dans la phase effectrice, et les cellules T CD8 mémoire peuvent intervenir dans des réponses croisées. Un rôle important pour les cellules B et les alloanticorps dans le rejet aigu a été récemment décrit (Alegre et coll., 2007).

D'autres cellules comme les macrophages, les cellules NK, les éosinophiles, les mastocytes et les neutrophiles sont également impliquées dans différents modèles de rejet. Les macrophages contribuent à la lésion tissulaire du rejet. En effet, dans un modèle de rejet aigu de rein chez le rat, ces cellules représentent 40 à 60 % de l'infiltrat cellulaire et l'élimination des macrophages atténue le rejet aigu (Jose et coll., 2003). Les monocytes sont abondants dans les infiltrats rénaux des patients déplétés en cellules T (anti-CD52 et FK506 en monothérapie) (Salama et coll., 2007). Récemment, le rôle des plaquettes a été démontré dans le rejet d'allo-greffe. Les plaquettes produisent des larges quantités de CD154 soluble qui agit sur les cellules dendritiques (Xu et coll., 2006).

Les cellules NK ont été identifiées dans l'infiltrat du greffon mais elles ne sont ni nécessaires, ni suffisantes aux mécanismes de rejet d'allo-greffe. Des observations récentes ont mis en évidence le rôle des cellules NK dans le rejet d'allo-greffe chez les souris déficientes en CD28. Dans ce modèle, une élimination des cellules NK par des anticorps anti-NK1.1 (Maier et coll., 2001 ; McNerney et coll., 2006) ou une inhibition du récepteur activateur des NK NKG2D (Kim et coll., 2007) induit une prolongation significative de la survie de l'allo-greffe. Ces observations méritent une attention particulière en clinique dans les protocoles qui utilisent des molécules bloquant la co-stimulation des cellules NK.

Un infiltrat de cellules NK dans l'endomyocarde est de mauvais pronostic en greffe cardiaque (Sorrentino et coll., 2006). Un rôle pour les cellules NK a par ailleurs été montré dans les modèles d'induction de tolérance (Yu G et coll., 2006).

---

1. *Regulated on Activation Normal T-cell Expressed and Secreted*

2. *Monocyte Chemoattractant Protein*

Les polynucléaires neutrophiles infiltrent également les allogreffes au cours du rejet aigu. Il a été montré que les éosinophiles intervenaient dans des modèles de rejet et que leur activation dépendait d'une réponse T CD4+ de type TH2 (dépendant d'IL-4) (Braun et coll., 2000 ; Surquin et coll., 2005). Le marquage des éosinophiles est très positif dans les infiltrats de greffe intestinale après élimination des cellules T (Wu et coll., 2006).

Les neutrophiles contribuent au rejet d'allogreffe dans des modèles de blocage de la co-stimulation (El-Sawy et coll., 2005), ou en absence d'IFN- $\gamma$  (Miura et coll., 2003) ou d'IL-4 (Surquin et coll., 2005).

### **Cellules T mémoire (T<sub>m</sub>) et réponse allospécifique**

La présence de cellules T<sub>m</sub> capables de réagir avec des alloantigènes chez des individus sains a été mise en évidence par le groupe de Lombardi en 1990. Les auteurs ont montré que dans une réaction lymphocytaire mixte les cellules T naïves et aussi les cellules T<sub>m</sub> (LFA-3+) étaient capables de proliférer. Les T<sub>m</sub> montraient une prolifération plus rapide (détectée à partir du 3<sup>e</sup> jour) comme c'est le cas dans les réponses immunes de type secondaire (Akbar et coll., 1990).

Plusieurs publications ont suggéré une participation des cellules T<sub>m</sub> dans les mécanismes de rejet aigu d'allogreffe. En clinique, la présence de cellules T<sub>m</sub> avant la greffe est liée à une augmentation de la fréquence et de l'intensité des épisodes de rejet aigu (Ibrahim et coll., 1993a et b, 1995 ; Dollinger et coll., 1998). La réactivité des T<sub>m</sub> vis-à-vis des cellules du donneur a été mesurée et il a été démontré qu'elle était liée à la fréquence des épisodes de rejet (Heeger et coll., 1999 ; Augustine et coll., 2005). Des études plus récentes ont mesuré la réponse des T<sub>m</sub> aux alloantigènes par des tests PRT (*Panel of Reactive T cell assay*) et des ELISPOT IFN- $\gamma$  contre un panel de lignées B (Poggio et coll., 2007). Dans deux revues récentes, les groupes de Jones (Brook et coll., 2006) et Larsen (Koehn et coll., 2006) débattent des différents types de T<sub>m</sub>, de leur génération, de la réactivité croisée des alloantigènes avec d'autres antigènes et des options thérapeutiques.

Différentes hypothèses tentent d'élucider les mécanismes par lesquels les cellules T<sub>m</sub> peuvent reconnaître des alloantigènes sans les avoir « vus ».

### **Réactivité croisée entre alloantigènes et agents infectieux**

Plusieurs publications ont montré chez les rongeurs et chez l'homme que des cellules T<sub>m</sub> reconnaissant des antigènes viraux pouvaient reconnaître également des alloantigènes. D'une façon intéressante, il a été montré que des cellules CD8 qui reconnaissaient un épitope du virus Epstein Barr (EBV) associé à HLA-B8 montraient une réactivité croisée avec des alloantigènes parmi lesquels HLA-B44. Il faut remarquer que la combinaison donneur HLA-B8 et receveur HLA-B44 a été identifiée comme étant une combinaison avec un fort risque de rejet.

### ***Prolifération homéostatique***

Les cellules T prolifèrent en conditions de lymphopénie et dans une telle situation, il a été montré que des cellules T naïves pouvaient générer des Tm. Des lymphopénies peuvent être induites par des infections virales, des traitements immunosuppresseurs comme l'utilisation d'ATG (*AntiThymocyte Globulins*) ou d'anticorps anti-CD52. La génération de cellules T mémoire par infection virale ou par prolifération homéostatique peut prévenir l'induction de tolérance, dans des modèles bien établis de tolérance chez le rongeur (Valujskikh et coll., 2002 ; Zhai et coll., 2002 ; Wu et coll., 2004). Ces résultats montrent que les cellules Tm peuvent être une barrière pour l'induction de tolérance.

Il est donc nécessaire de développer des thérapeutiques visant à empêcher la génération des Tm ou à les éliminer. L'effet des immunosuppresseurs sur les Tm a commencé à être étudié. Les cellules Tm CD4+ sont résistantes aux stéroïdes, à la deoxyspergualin et au sirolimus. En revanche, le tacrolimus et la ciclosporine A inhibent leur prolifération et leur activation *in vitro* (Pearl et coll., 2005). Des résultats récents montrent que les Tm dépendent, pour une activation optimale, de molécules de co-stimulation différentes de celles qui agissent sur les cellules naïves comme ICOS/ICOSL, OX40/OX40L, CD27/CD70 (Croft, 2003 ; Wu et coll., 2004). Il a été montré récemment que le blocage de la voie CD27/CD70 prolonge la survie de la greffe cardiaque chez la souris (Yamada et coll., 2005). Par ailleurs, l'inhibition de l'IL-7 est capable d'inhiber le rejet d'allogreffe induit par des cellules Tm sans inhiber les cellules Treg (Wang et coll., 2006).

Dans les modèles animaux, la présence de cellules CD8 mémoire pourrait empêcher l'induction de tolérance par blocage de la co-stimulation (Trambley et coll., 1999).

Chez le primate, l'élimination des cellules T CD8 mémoires permet l'établissement de la tolérance induite par administration de moelle osseuse et blocage de la co-stimulation (Koyama et coll., 2007). Les auteurs émettent l'hypothèse que les cellules CD8 mémoire pourraient être résistantes au blocage de la co-stimulation.

Une étude faite chez les transplantés du foie a montré que la présence d'un nombre élevé de cellules CD8 avec un phénotype mémoire avant la greffe allait de pair avec une survie réduite de la greffe (Tanaka et coll., 2006).

### **Réponse B, anticorps et rejet d'allogreffe**

L'introduction du marquage C4d dans les biopsies rénales et l'utilisation de méthodes plus sensibles pour la détection d'alloanticorps spécifiques du donneur ont démontré l'importance des alloanticorps dans l'induction de rejets humoraux aigus (RHA). Le rôle des alloanticorps dans les mécanismes du

rejet aigu a été mis en évidence dans les années 1990 par le groupe de Halloran qui a décrit qu'un rejet aigu avec mauvais pronostic était associé avec la production d'anticorps anti-donneur après transplantation (Halloran et coll., 1990). Au même moment, Feucht a démontré que la présence de dépôts de C4d dans les capillaires péri-tubulaires (CPT) était associée à une survie inférieure à un an (Feucht et coll., 1993). Dans une revue récente, Terasaki et coll. proposent d'améliorer la détection des anticorps après transplantation par la quantification et l'identification des cibles des alloanticorps. Ils suggèrent que cette analyse pourrait être importante dans le suivi des patients et permettrait d'ajuster les traitements (Cai et Terasaki, 2008).

Les critères pour le diagnostic du rejet humoral aigu ont été établis récemment pour le rein (d'après *Banff working group*, Racusen et coll., 2003). Au moins un critère de chaque type doit être positif pour le diagnostiquer :

- critères morphologiques : neutrophiles et/ou monocytes/macrophages dans les capillaires péri-tubulaires et/ou glomérule, nécrose artérielle fibrineuse, thrombose dans les capillaires glomérulaires, artérioles et/ou petites artères, lésions tubulaires aiguës ;
- critères immunohistologiques : dépôts de C4d dans les CPT, Ig et ou complément dans les nécroses fibrineuses des artères ;
- critères sérologiques : présence d'anticorps anti-donneur (HLA et non HLA) circulants.

Ces critères ont été optimisés lors de la 9<sup>e</sup> conférence Banff (Solez et coll., 2008). Le niveau de dépôts de C4d a été évalué et quantifié : C4d0 négatif ; C4d1 minimal (< 10 % de la surface de la biopsie) ; C4d2 focal (10 à 50 %) et C4d3 diffus (> 50 %). La situation clinique de C4d + sans évidences morphologiques de rejet a été ajoutée. La relation entre cette situation et le devenir de la greffe n'a pas encore été établie et nécessite plus d'études. Cette situation est connue dans les modèles de xénogreffes comme un mécanisme d'accommodation ; elle est également fréquente dans les greffes ABO incompatibles. Cependant, il a été montré que les patients qui présentaient des dépôts de C4d + sans évidences morphologiques de rejet bénéficiaient d'un traitement anti-rejet (Dickenmann et coll., 2006), ce qui suggère que la situation de dépôts de C4d + sans évidences morphologiques de rejet pourrait être associée à un rejet humoral aigu.

La « théorie humorale en transplantation » de Terasaki et Cai (2005) propose que les greffes sont rejetées par les anticorps et non pas par les cellules. Les cellules sont nécessaires car elles produisent des facteurs et des anticorps mais ce sont les anticorps qui détruisent la greffe. Si les anticorps sont les effecteurs du rejet, leur élimination devrait permettre de diminuer le traitement immunosuppresseif.

Une étude concernant des rejets aigus rénaux a mis en évidence chez les patients la présence d'anticorps anti-donneur dans les deux types de rejet,

cellulaire et humoral (Zhang et coll., 2005). Dans des biopsies rénales, une semaine après transplantation, des dépôts de C4d ont été trouvés dans 33 % des biopsies qui montraient un rejet aigu et seulement dans 3 % des biopsies sans rejet (Koo et coll., 2004). Une étude faite six mois après transplantation a montré dans les biopsies rénales des dépôts diffus de C4d dans 42 % des organes des patients ayant développé un rejet aigu par la suite. La perte du greffon après un an était de 65 % chez les patients positifs pour C4d comparé à 33 % chez les négatifs (Poduval et coll., 2005).

Dans une étude de receveurs de greffe de poumon, l'apparition d'anticorps a été corrélée avec un rejet aigu chez 10 des 14 patients avec anticorps et chez 11 des 37 patients sans anticorps (Girnit et coll., 2005). Dans un modèle animal de transplantation cardiaque, il a été démontré que les cellules B étaient importantes pour la présentation indirecte des alloantigènes et pour le rejet aigu (Noorchashm et coll., 2006). La présence de cellules B dans les infiltrats est, en général, un signe de mauvais pronostic pour la survie de la greffe. Mais ceci n'a pas été confirmé dans toutes les études. Dans les biopsies de greffon rénal, un profil d'expression de gènes avec une « signature de cellule B » est corrélé avec un mauvais pronostic (Sarwal et coll., 2003). La présence de cellules CD20+ infiltrant le greffon rénal, en absence de marquage C4d (sans Ac), avec un rejet aigu a été associée à une résistance aux corticoïdes et à un mauvais pronostic (Hippen et coll., 2005).

Des allogreffes cardiaques avec des cellules B infiltrantes sont associées à un haut risque de rejets récurrents (Sorrentino et coll., 2006) mais répondent au traitement anti-CD20 (Alausa et coll., 2005). Une étude intéressante a montré une production *in situ* d'anticorps et l'apparition de « centres germinaux » dans le greffon (Thaumat et coll., 2005). Dans une étude rétrospective de 92 patients avec des biopsies pour dysfonctionnement rénal, les dépôts de C4d et les anticorps spécifiques du donneur ont été recherchés et le devenir de la greffe a été étudié. Les résultats montrent un marquage C4d diffus dans 15 % des cas et un marquage focal dans 24 % des cas. La greffe échoue chez 36 % des patients avec marquage diffus, chez 23 % des patients avec marquages focaux et seulement chez 7 % des patients avec des marquages négatifs, entre un mois et 15 ans après transplantation. Des anticorps anti-donneur ont été retrouvés uniquement chez les patients avec un marquage C4d diffus. Dans ce groupe, 100 % des greffes ont été rejetées (Worthington et coll., 2007). Une étude faite sur des biopsies cardiaques a montré un dépôt de C4d au niveau des capillaires myocardiques que corrobore la présence d'anticorps anti-donneur dans 21 cas sur 25 tandis que seulement 7 des 60 greffons sans anticorps ont un marquage C4d (Smith et coll., 2005).

Une étude a comparé la présence de C4d avec l'appariement HLA entre donneur et receveur en transplantation hépatique. Les dépôts de C4d sont retrouvés chez 82 % des patients avec un *cross match* positif et seulement

chez 32 % des patients avec un *cross match* négatif ce qui montre que la présence d'alloanticorps est corrélée avec un rejet humoral et une faible survie de la greffe (Sakashita et coll., 2007).

### **Antigènes cibles des alloanticorps**

Les alloanticorps générés contre l'organe du donneur peuvent reconnaître différents types d'antigènes : les antigènes HLA du complexe majeur d'histocompatibilité (de classe I et II), les antigènes apparentés à HLA MICA et MICB (*MHC class I-related molecules A and B*), les antigènes mineurs d'histocompatibilité, les antigènes non-HLA incluant le récepteur de l'angiotensine II type 1 (Dragun et coll., 2005), la vimentine (Mahesh et coll., 2007), la myosine, les antigènes de groupe sanguin ABO, le perlecan, le collagène IV et VI et l'agrine (Joosten et coll., 2005). Cependant, les anticorps le plus souvent retrouvés sont ceux qui reconnaissent les molécules HLA et ils sont identifiés par des techniques de « *crossmatching* » avant la transplantation. Dans les dernières années, un grand intérêt a été porté à l'étude des anticorps dirigés contre des antigènes non-HLA dans les mécanismes du rejet d'allogreffe (pour revue récente, voir Sumitran-Holgersson, 2008).

Le groupe de Opelz a étudié le rôle des anticorps anti-MICA préexistants au moment de la transplantation dans le devenir de la greffe rénale chez 1 910 receveurs (Zou et coll., 2007). Leurs résultats montrent que la présence d'anticorps anti-MICA est associée à un rejet de greffe. Cet effet est plus important dans les greffes qui sont bien appariées au niveau HLA. D'autres études ont montré que la production d'anticorps anti-MICA après transplantation rénale était corrélée à un mauvais pronostic de la greffe (Mizutani et coll., 2005). Ces résultats ont été confirmés dans une étude faite sur des receveurs de greffe cardiaque (Suarez-Alvarez et coll., 2007). Récemment, dans deux études prospectives de greffe rénale, à un et quatre ans, Terasaki et coll. (2007) ont démontré que les anticorps anti-HLA et anti-MICA sont associés au rejet d'allogreffe. Il a été montré que les anticorps anti-MICA pourraient être à l'origine de la formation des lésions en induisant l'apoptose des cellules endothéliales (Le Bas-Bernardet et coll., 2003). À l'opposé, la détection de la forme soluble de MICA chez les receveurs de greffe cardiaque est de bon pronostic (Suarez-Alvarez et coll., 2007).

**En conclusion**, deux mécanismes immunologiques généraux sont mis en jeu au cours du rejet d'allogreffe, la réponse innée et la réponse adaptative. La prévention du rejet commence bien avant la transplantation et nécessite après transplantation un suivi immunologique afin de repérer précocement le rejet d'allogreffe. Une meilleure compréhension des mécanismes du rejet d'allogreffe pourrait permettre d'identifier les couples donneur-receveur à risque et de mieux cibler les traitements immunosuppresseurs.

## BIBLIOGRAPHIE

AKASHI S, SHO M, KASHIZUKA H, HAMADA K, IKEDA N, et coll. A novel small-molecule compound targeting CCR5 and CXCR3 prevents acute and chronic allograft rejection. *Transplantation* 2005, **80** : 378-384

AKBAR AN, AMLOT PL, TIMMS A, LOMBARDI G, LECHLER R, JANOSSY G. The development of primed/memory CD8+ lymphocytes in vitro and in rejecting kidneys after transplantation. *Clin Exp Immunol* 1990, **81** : 225-231

ALAUSA M, ALMAGRO U, SIDDIQI N, ZUIDERWEG R, MEDIPALLI R, HARIHARAN S. Refractory acute kidney transplant rejection with CD20 graft infiltrates and successful therapy with rituximab. *Clin Transplant* 2005, **19** : 137-140

ALEGRE ML, FLORQUIN S, GOLDMAN M. Cellular mechanisms underlying acute graft rejection: time for reassessment. *Curr Opin Immunol* 2007, **19** : 563-568

ANDERSON CC, MATZINGER P. Immunity or tolerance: opposite outcomes of micro-chimerism from skin grafts. *Nat Med* 2001, **7** : 80-87

AUGUSTINE JJ, SIU DS, CLEMENTE MJ, SCHULAK JA, HEEGER PS, HRICIK DE. Pre-transplant IFN-gamma ELISPOTs are associated with post-transplant renal function in African American renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2005, **5** : 1971-1975

BELPERIO JA, KEANE MP, BURDICK MD, LYNCH JP 3RD, ZISMAN DA, et coll. Role of CXCL9/CXCR3 chemokine biology during pathogenesis of acute lung allograft rejection. *J Immunol* 2003, **171** : 4844-4852

BINGAMAN AW, HA J, WAITZE SY, DURHAM MM, CHO HR, et coll. Vigorous allograft rejection in the absence of danger. *J Immunol* 2000, **164** : 3065-3071

BRAUN MY, DESALLE F, LE MOINE A, PRETOLANI M, MATTHYS P, et coll. IL-5 and eosinophils mediate the rejection of fully histoincompatible vascularized cardiac allografts: regulatory role of alloreactive CD8(+) T lymphocytes and IFN-gamma. *Eur J Immunol* 2000, **30** : 1290-1296

BROOK MO, WOOD KJ, JONES ND. The impact of memory T cells on rejection and the induction of tolerance. *Transplantation* 2006, **82** : 1-9

CAI J, TERASAKI PI. Humoral theory of transplantation: mechanism, prevention, and treatment. *Hum Immunol* 2005a, **66** : 334-342

CAI J, TERASAKI PI. Human leukocyte antigen antibodies for monitoring transplant patients. *Surg Today* 2005b, **35** : 605-612

CAI J, TERASAKI PI. Post-transplantation antibody monitoring and HLA antibody epitope identification. *Curr Opin Immunol* 2008, **20** : 602-606

CHALASANI G, LI Q, KONIECZNY BT, SMITH-DIGGS L, WROBEL B, et coll. The allograft defines the type of rejection (acute versus chronic) in the face of an established effector immune response. *J Immunol* 2004, **172** : 7813-7820

CHRISTOPHER K, MUELLER TF, MA C, LIANG Y, PERKINS DL. Analysis of the innate and adaptive phases of allograft rejection by cluster analysis of transcriptional profiles. *J Immunol* 2002, **169** : 522-530

CROFT M. Costimulation of T cells by OX40, 4-1BB, and CD27. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003, **14** : 265-273

DICKENMANN M, STEIGER J, DESCOEUDRES B, MIHATSCH M, NICKELEIT V. The fate of C4d positive kidney allografts lacking histological signs of acute rejection. *Clin Nephrol* 2006, **65** : 173-179

DOLLINGER MM, HOWIE SE, PLEVRIS JN, GRAHAM AM, HAYES PC, et coll. Intrahepatic proliferation of 'naive' and 'memory' T cells during liver allograft rejection: primary immune response within the allograft. *Faseb J* 1998, **12** : 939-947

DRAGUN D, MULLER DN, BRASEN JH, FRITSCH L, NIEMINEN-KELHA M, et coll. Angiotensin II type 1-receptor activating antibodies in renal-allograft rejection. *N Engl J Med* 2005, **352** : 558-569

DUCLoux D, DESCHAMPS M, YANNARAKI M, FERRAND C, BAMOULID J, et coll. Relevance of Toll-like receptor-4 polymorphisms in renal transplantation. *Kidney Int* 2005, **67** : 2454-2461

EL-SAWY T, BELPERIO JA, STRIETER RM, REMICK DG, FAIRCHILD RL. Inhibition of polymorphonuclear leukocyte-mediated graft damage synergizes with short-term costimulatory blockade to prevent cardiac allograft rejection. *Circulation* 2005, **112** : 320-331

FEUCHT HE, SCHNEEBERGER H, HILLEBRAND G, BURKHARDT K, WEISS M, et coll. Capillary deposition of C4d complement fragment and early renal graft loss. *Kidney Int* 1993, **43** : 1333-1338

FLEURY S, LI J, SIMEONI E, FIORINI E, VON SEGESSER LK, et coll. Gene transfer of RANTES and MCP-1 chemokine antagonists prolongs cardiac allograft survival. *Gene Ther* 2006, **13** : 1104-1109

GAO W, FAIA KL, CSIZMADIA V, SMILEY ST, SOLER D, et coll. Beneficial effects of targeting CCR5 in allograft recipients. *Transplantation* 2001, **72** : 1199-1205

GIRNITA AL, DUQUESNOY R, YOUSEM SA, IACONO AT, CORCORAN TE, et coll. HLA-specific antibodies are risk factors for lymphocytic bronchiolitis and chronic lung allograft dysfunction. *Am J Transplant* 2005, **5** : 131-138

GOLDSTEIN DR, TESAR BM. Toll-like receptors and allograft rejection. *Am J Respir Crit Care Med* 2004, **169** : 971; author reply 971-972

GOLDSTEIN DR, TESAR BM, AKIRA S, LAKKIS FG. Critical role of the Toll-like receptor signal adaptor protein MyD88 in acute allograft rejection. *J Clin Invest* 2003, **111** : 1571-1578

GOLSHAYAN D, BUHLER L, LECHLER RI, PASCUAL M. From current immunosuppressive strategies to clinical tolerance of allografts. *Transpl Int* 2007, **20** : 12-24

HADJILIADIS D, DAVIS RD, PALMER SM. Is transplant operation important in determining posttransplant risk of bronchiolitis obliterans syndrome in lung transplant recipients? *Chest* 2002, **122** : 1168-1175

HALLORAN PF, WADGYMAR A, RITCHIE S, FALK J, SOLEZ K, SRINIVASA NS. The significance of the anti-class I antibody response. I. Clinical and pathologic features of anti-class I-mediated rejection. *Transplantation* 1990, **49** : 85-91



HANCOCK WW. Chemokine receptor-dependent alloresponses. *Immunol Rev* 2003, **196** : 37-50

HANCOCK WW, GAO W, FAIA KL, CSIZMADIA V. Chemokines and their receptors in allograft rejection. *Curr Opin Immunol* 2000a, **12** : 511-516

HANCOCK WW, LU B, GAO W, CSIZMADIA V, FAIA K, et coll. Requirement of the chemokine receptor CXCR3 for acute allograft rejection. *J Exp Med* 2000b, **192** : 1515-1520

HASKOVA Z, IZAWA A, CONTRERAS AG, FLYNN E, BOULDAY G, BRISCOE DM. Organ-specific differences in the function of MCP-1 and CXCR3 during cardiac and skin allograft rejection. *Transplantation* 2007, **83** : 1595-1601

HE H, STONE JR, PERKINS DL. Analysis of robust innate immune response after transplantation in the absence of adaptative immunity. *Transplantation* 2002, **73** : 853-861

HE H, STONE JR, PERKINS DL. Analysis of differential immune responses induced by innate and adaptive immunity following transplantation. *Immunology* 2003, **109** : 185-196

HEEGER PS, GREENSPAN NS, KUHLENSCHMIDT S, DEJELO C, HRICIK DE, et coll. Pretransplant frequency of donor-specific, IFN-gamma-producing lymphocytes is a manifestation of immunologic memory and correlates with the risk of posttransplant rejection episodes. *J Immunol* 1999, **163** : 2267-2275

HERRERA OB, GOLSHAYAN D, TIBBOTT R, SALCIDO OCHOA F, JAMES MJ, et coll. A novel pathway of alloantigen presentation by dendritic cells. *J Immunol* 2004, **173** : 4828-4837

HIPPEN BE, DEMATTOS A, COOK WJ, KEW CE 2ND, GASTON RS. Association of CD20+ infiltrates with poorer clinical outcomes in acute cellular rejection of renal allografts. *Am J Transplant* 2005, **5** : 2248-2252

HOFFMANN U, SEGERER S, RUMMELE P, KRUGER B, PIETRZYK M, et coll. Expression of the chemokine receptor CXCR3 in human renal allografts--a prospective study. *Nephrol Dial Transplant* 2006, **21** : 1373-1381

IBRAHIM S, DAWSON DV, KILLENBERG PG, SANFILIPPO F. The pattern and phenotype of T-cell infiltration associated with human liver allograft rejection. *Hum Pathol* 1993a, **24** : 1365-1370

IBRAHIM S, DAWSON DV, VAN TRIGT P, SANFILIPPO F. Differential infiltration by CD45RO and CD45RA subsets of T cells associated with human heart allograft rejection. *Am J Pathol* 1993b, **142** : 1794-1803

IBRAHIM S, DAWSON DV, SANFILIPPO F. Predominant infiltration of rejecting human renal allografts with T cells expressing CD8 and CD45RO. *Transplantation* 1995, **59** : 724-728

JANEWAY CA JR., MEDZHITOV R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol* 2002, **20** : 197-216. Epub 2001 Oct 4

JOHNSON GB, BRUNN GJ, KODAIRA Y, PLATT JL. Receptor-mediated monitoring of tissue well-being via detection of soluble heparan sulfate by Toll-like receptor 4. *J Immunol* 2002, **168** : 5233-5239

JOOSTEN SA, SIJPKENS YW, VAN HAM V, TROUW LA, VAN DER VLAG J, et coll. Antibody response against the glomerular basement membrane protein agrin in patients with transplant glomerulopathy. *Am J Transplant* 2005, **5** : 383-393

JOSE MD, IKEZUMI Y, VAN ROOIJEN N, ATKINS RC, CHADBAN SJ. Macrophages act as effectors of tissue damage in acute renal allograft rejection. *Transplantation* 2003, **76** : 1015-1022

KAZORY A, DUCLOUX D. Cytomegalovirus and thromboembolism in renal transplantation. *Transplantation* 2005a, **79** : 248-249

KAZORY A, DUCLOUX D. Clinical relevance of BK virus quantitative PCR in renal transplantation. *Intervirology* 2005b, **48** : 405 ; author reply 406-407

KIM J, CHANG CK, HAYDEN T, LIU FC, BENJAMIN J, et coll. The activating immunoreceptor NKG2D and its ligands are involved in allograft transplant rejection. *J Immunol* 2007, **179** : 6416-6420

KOEHN B, GANGAPPA S, MILLER JD, AHMED R, LARSEN CP. Patients, pathogens, and protective immunity: the relevance of virus-induced alloreactivity in transplantation. *J Immunol* 2006, **176** : 2691-2696

KOO DD, ROBERTS IS, QUIROGA I, PROCTER J, BARNARDO MC, et coll. C4d deposition in early renal allograft protocol biopsies. *Transplantation* 2004, **78** : 398-403

KOTSCH K, FRANCUSKI M, PASCHER A, KLEMZ R, SEIFERT M, et coll. Improved long-term graft survival after HO-1 induction in brain-dead donors. *Am J Transplant* 2006, **6** : 477-486

KOYAMA I, NADAZDIN O, BOSKOVIC S, OCHIAI T, SMITH RN, et coll. Depletion of CD8 memory T cells for induction of tolerance of a previously transplanted kidney allograft. *Am J Transplant* 2007, **7** : 1055-1061

LAND W, SCHNEEBERGER H, SCHLEIBNER S, ILLNER WD, ABENDROTH D, et coll. The beneficial effect of human recombinant superoxide dismutase on acute and chronic rejection events in recipients of cadaveric renal transplants. *Transplantation* 1994, **57** : 211-217

LAND WG. The role of postischemic reperfusion injury and other nonantigen-dependent inflammatory pathways in transplantation. *Transplantation* 2005, **79** : 505-514

LAROSA DF, RAHMAN AH, TURKA LA. The innate immune system in allograft rejection and tolerance. *J Immunol* 2007, **178** : 7503-7509

LE BAS-BERNARDET S, HOURMANT M, COUPEL S, BIGNON JD, SOULILLOU JP, CHARREAU B. Non-HLA-type endothelial cell reactive alloantibodies in pre-transplant sera of kidney recipients trigger apoptosis. *Am J Transplant* 2003, **3** : 167-177

LEEMANS JC, STOKMAN G, CLAESSEN N, ROUSCHOP KM, TESKE GJ, et coll. Renal-associated TLR2 mediates ischemia/reperfusion injury in the kidney. *J Clin Invest* 2005, **115** : 2894-2903

MAHESH B, LEONG HS, MCCORMACK A, SARATHCHANDRA P, HOLDER A, ROSE ML. Autoantibodies to vimentin cause accelerated rejection of cardiac allografts. *Am J Pathol* 2007, **170** : 1415-1427

MAIER S, TERTILT C, CHAMBRON N, GERAUER K, HUSER N, et coll. Inhibition of natural killer cells results in acceptance of cardiac allografts in CD28<sup>-/-</sup> mice. *Nat Med* 2001, **7** : 557-562

MARKS R, FINKE J. Biologics in the prevention and treatment of graft rejection. *Springer Semin Immunopathol* 2006, **27** : 457-476

MASINI E, CUZZOCREA S, MAZZON E, MARZOCCA C, MANNAIONI PF, SALVEMINI D. Protective effects of M40403, a selective superoxide dismutase mimetic, in myocardial ischaemia and reperfusion injury in vivo. *Br J Pharmacol* 2002, **136** : 905-917

MATZINGER P. Tolerance, danger, and the extended family. *Annu Rev Immunol* 1994, **12** : 991-1045

MCNERNEY ME, LEE KM, ZHOU P, MOLINERO L, MASHAYEKHI M, et coll. Role of natural killer cell subsets in cardiac allograft rejection. *Am J Transplant* 2006, **6** : 505-513

METHE H, ZIMMER E, GRIMM C, NABAUER M, KOGLIN J. Evidence for a role of toll-like receptor 4 in development of chronic allograft rejection after cardiac transplantation. *Transplantation* 2004, **78** : 1324-1331

MIURA M, EL-SAWY T, FAIRCHILD RL. Neutrophils mediate parenchymal tissue necrosis and accelerate the rejection of complete major histocompatibility complex-disparate cardiac allografts in the absence of interferon-gamma. *Am J Pathol* 2003, **162** : 509-519

MIZUTANI K, TERASAKI P, ROSEN A, ESQUENAZI V, MILLER J, et coll. Serial ten-year follow-up of HLA and MICA antibody production prior to kidney graft failure. *Am J Transplant* 2005, **5** : 2265-2272

MOLLEN KP, ANAND RJ, TSUNG A, PRINCE JM, LEVY RM, BILLIAR TR. Emerging paradigm: toll-like receptor 4-sentinel for the detection of tissue damage. *Shock* 2006, **26** : 430-437

MONIWA N, AGATA J, HAGIWARA M, URA N, SHIMAMOTO K. The role of bradykinin B1 receptor on cardiac remodeling in stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHR-SP). *Biol Chem* 2006, **387** : 203-209

NOORCHASHM H, REED AJ, ROSTAMI SY, MOZAFFARI R, ZEKAVAT G, et coll. B cell-mediated antigen presentation is required for the pathogenesis of acute cardiac allograft rejection. *J Immunol* 2006, **177** : 7715-7722

OHASHI K, BURKART V, FLOHE S, KOLB H. Cutting edge: heat shock protein 60 is a putative endogenous ligand of the toll-like receptor-4 complex. *J Immunol* 2000, **164** : 558-561

OKAMURA Y, WATARI M, JERUD ES, YOUNG DW, ISHIZAKA ST, et coll. The extra domain A of fibronectin activates Toll-like receptor 4. *J Biol Chem* 2001, **276** : 10229-10233

OYAMA J, BLAIS C JR., LIU X, PU M, KOBZIK L, et coll. Reduced myocardial ischemia-reperfusion injury in toll-like receptor 4-deficient mice. *Circulation* 2004, **109** : 784-789

PALMER SM, BURCH LH, DAVIS RD, HERCZYK WF, HOWELL DN, et coll. The role of innate immunity in acute allograft rejection after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2003, **168** : 628-632

PALMER SM, BURCH LH, TRINDADE AJ, DAVIS RD, HERCZYK WF, et coll. Innate immunity influences long-term outcomes after human lung transplant. *Am J Respir Crit Care Med* 2005, **171** : 780-785

PALMER SM, BURCH LH, MIR S, SMITH SR, KUO PC, et coll. Donor polymorphisms in Toll-like receptor-4 influence the development of rejection after renal transplantation. *Clin Transplant* 2006, **20** : 30-36

PALMER SM, KLIMECKI W, YU L, REINSMOEN NL, SNYDER LD, et coll. Genetic regulation of rejection and survival following human lung transplantation by the innate immune receptor CD14. *Am J Transplant* 2007, **7** : 693-699

PANZER U, REINKING RR, STEINMETZ OM, ZAHNER G, SUDBECK U, et coll. CXCR3 and CCR5 positive T-cell recruitment in acute human renal allograft rejection. *Transplantation* 2004, **78** : 1341-1350

PEARL JP, PARRIS J, HALE DA, HOFFMANN SC, BERNSTEIN WB, et coll. Immunocompetent T-cells with a memory-like phenotype are the dominant cell type following antibody-mediated T-cell depletion. *Am J Transplant* 2005, **5** : 465-474

PENG Y, GONG JP, LIU CA, LI XH, GAN L, LI SB. Expression of toll-like receptor 4 and MD-2 gene and protein in Kupffer cells after ischemia-reperfusion in rat liver graft. *World J Gastroenterol* 2004, **10** : 2890-2893

PODUVAL RD, KADAMBI PV, JOSEPHSON MA, COHN RA, HARLAND RC, et coll. Implications of immunohistochemical detection of C4d along peritubular capillaries in late acute renal allograft rejection. *Transplantation* 2005, **79** : 228-235

POGGIO ED, AUGUSTINE JJ, CLEMENTE M, DANZIG JM, VOLOKH N, et coll. Pretransplant cellular alloimmunity as assessed by a panel of reactive T cells assay correlates with acute renal graft rejection. *Transplantation* 2007, **83** : 847-852

PORT FK, DYKSTRA DM, MERION RM, WOLFE RA. Organ donation and transplantation trends in the USA, 2003. *Am J Transplant* 2004, **4** (Suppl 9) : 7-12

RACUSEN LC, COLVIN RB, SOLEZ K, MIHATSCH MJ, HALLORAN PF, et coll. Antibody-mediated rejection criteria - an addition to the Banff 97 classification of renal allograft rejection. *Am J Transplant* 2003, **3** : 708-714

SAKASHITA H, HAGA H, ASHIHARA E, WEN MC, TSUJI H, et coll. Significance of C4d staining in ABO-identical/compatible liver transplantation. *Mod Pathol* 2007, **20** : 676-684

SALAMA AD, WOMER KL, SAYEGH MH. Clinical transplantation tolerance: many rivers to cross. *J Immunol* 2007, **178** : 5419-5423

SARWAL M, CHUA MS, KAMBHAM N, HSIEH SC, SATTERWHITE T, et coll. Molecular heterogeneity in acute renal allograft rejection identified by DNA microarray profiling. *N Engl J Med* 2003, **349** : 125-138

SCHAEFER L, BABELOVA A, KISS E, HAUSSER HJ, BALIOVA M, et coll. The matrix component biglycan is proinflammatory and signals through Toll-like receptors 4 and 2 in macrophages. *J Clin Invest* 2005, **115** : 2223-2233

SCHROPPEL B, ZHANG N, CHEN P, ZANG W, CHEN D, et coll. Differential expression of chemokines and chemokine receptors in murine islet allografts: the role of CCR2 and CCR5 signaling pathways. *J Am Soc Nephrol* 2004, **15** : 1853-1861

SMITH RN, BROUSAIDES N, GRAZETTE L, SAIDMAN S, SEMIGRAN M, et coll. C4d deposition in cardiac allografts correlates with alloantibody. *J Heart Lung Transplant* 2005, **24** : 1202-1210

SOLEZ K, COLVIN RB, RACUSEN LC, HAAS M, SIS B, et coll. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant* 2008, **8** : 753-760

SORRENTINO C, SCARINCI A, D'ANTUONO T, PICCIRILLI M, DI NICOLA M, et coll. Endomyocardial infiltration by B and NK cells foreshadows the recurrence of cardiac allograft rejection. *J Pathol* 2006, **209** : 400-410

SUAREZ-ALVAREZ B, LOPEZ-VAZQUEZ A, GONZALEZ MZ, FDEZ-MORERA JL, DIAZ-MOLINA B, et coll. The relationship of anti-MICA antibodies and MICA expression with heart allograft rejection. *Am J Transplant* 2007, **7** : 1842-1848

SUMITRAN-HOLGERSSON S. Relevance of MICA and other non-HLA antibodies in clinical transplantation. *Curr Opin Immunol* 2008, **20** : 607-613

SURQUIN M, LE MOINE A, FLAMAND V, ROMBAUT K, DEMOOR FX, et coll. IL-4 deficiency prevents eosinophilic rejection and uncovers a role for neutrophils in the rejection of MHC class II disparate skin grafts. *Transplantation* 2005, **80** : 1485-1492

TAHARA M, NAKAYAMA M, JIN MB, FUJITA M, SUZUKI T, et coll. A radical scavenger, edaravone, protects canine kidneys from ischemia-reperfusion injury after 72 hours of cold preservation and autotransplantation. *Transplantation* 2005, **80** : 213-221

TANAKA K, OZAWA K, TERAMUKAI S, TAKADA Y, EGAWA H, et coll. Classification of human liver transplant recipients by their preoperative CD8+ T cell subpopulation and its relation to outcome. *Liver Transpl* 2006, **12** : 792-800

TERASAKI PI, CAI J. Humoral theory of transplantation: further evidence. *Curr Opin Immunol* 2005, **17** : 541-545

TERASAKI PI, OZAWA M, CASTRO R. Four-year follow-up of a prospective trial of HLA and MICA antibodies on kidney graft survival. *Am J Transplant* 2007, **7** : 408-415

TESAR BM, JIANG D, LIANG J, PALMER SM, NOBLE PW, GOLDSTEIN DR. The role of hyaluronan degradation products as innate alloimmune agonists. *Am J Transplant* 2006, **6** : 2622-2635

THAUNAT O, FIELD AC, DAI J, LOUEDEC L, PATEY N, et coll. Lymphoid neogenesis in chronic rejection: evidence for a local humoral alloimmune response. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005, **102** : 14723-14728

TRAMBLEY J, BINGAMAN AW, LIN A, ELWOOD ET, WAITZE SY, et coll. Asialo GM1(+) CD8(+) T cells play a critical role in costimulation blockade-resistant allograft rejection. *J Clin Invest* 1999, **104** : 1715-1722

TSUNG A, SAHAI R, TANAKA H, NAKAO A, FINK MP, et coll. The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia-reperfusion. *J Exp Med* 2005, **201** : 1135-1143

VABULAS RM, WAGNER H, SCHILD H. Heat shock proteins as ligands of toll-like receptors. *Curr Top Microbiol Immunol* 2002a, **270** : 169-184

VABULAS RM, AHMAD-NEJAD P, GHOSE S, KIRSCHNING CJ, ISSELS RD, WAGNER H. HSP70 as endogenous stimulus of the Toll/interleukin-1 receptor signal pathway. *J Biol Chem* 2002b, **277** : 15107-15112

VALUJSKIKH A, PANTENBURG B, HEEGER PS. Primed allospecific T cells prevent the effects of costimulatory blockade on prolonged cardiac allograft survival in mice. *Am J Transplant* 2002, **2** : 501-509

WALKER WE, NASR IW, CAMIRAND G, TESAR BM, BOOTH CJ, GOLDSTEIN DR. Absence of innate MyD88 signaling promotes inducible allograft acceptance. *J Immunol* 2006, **177** : 5307-5316

WANG Y, DAI H, LIU Z, CHENG X, TELLIDES G, DAI Z. Neutralizing IL-7 promotes long-term allograft survival induced by CD40/CD40L costimulatory blockade. *Am J Transplant* 2006, **6** : 2851-2860

WORTHINGTON JE, MCEWEN A, MCWILLIAM LJ, PICTON ML, MARTIN S. Association between C4d staining in renal transplant biopsies, production of donor-specific HLA antibodies, and graft outcome. *Transplantation* 2007, **83** : 398-403

WU T, BOND G, MARTIN D, NALESNIK MA, DEMETRIS AJ, ABU-ELMAGD K. Histopathologic characteristics of human intestine allograft acute rejection in patients pretreated with thymoglobulin or alemtuzumab. *Am J Gastroenterol* 2006, **101** : 1617-1624

WU Z, BENSINGER SJ, ZHANG J, CHEN C, YUAN X, et coll. Homeostatic proliferation is a barrier to transplantation tolerance. *Nat Med* 2004, **10** : 87-92

XU H, ZHANG X, MANNON RB, KIRK AD. Platelet-derived or soluble CD154 induces vascularized allograft rejection independent of cell-bound CD154. *J Clin Invest* 2006, **116** : 769-774

YAMADA A, SALAMA AD, SHO M, NAJAFIAN N, ITO T, et coll. CD70 signaling is critical for CD28-independent CD8+ T cell-mediated alloimmune responses in vivo. *J Immunol* 2005, **174** : 1357-1364

YU G, XU X, VU MD, KILPATRICK ED, LI XC. NK cells promote transplant tolerance by killing donor antigen-presenting cells. *J Exp Med* 2006, **203** : 1851-1858

YU M, WANG H, DING A, GOLENBOCK DT, LATZ E, et coll. HMGB1 signals through toll-like receptor (TLR) 4 and TLR2. *Shock* 2006, **26** : 174-179

ZHAI Y, MENG L, GAO F, BUSUTTIL RW, KUPIEC-WEGLINSKI JW. Allograft rejection by primed/memory CD8+ T cells is CD154 blockade resistant: therapeutic implications for sensitized transplant recipients. *J Immunol* 2002, **169** : 4667-4673

ZHAI Y, SHEN XD, O'CONNELL R, GAO F, LASSMAN C, et coll. Cutting edge: TLR4 activation mediates liver ischemia/reperfusion inflammatory response via IFN regulatory factor 3-dependent MyD88-independent pathway. *J Immunol* 2004, **173** : 7115-7119

ZHAI Y, SHEN XD, HANCOCK WW, GAO F, QIAO B, et coll. CXCR3+CD4+ T cells mediate innate immune function in the pathophysiology of liver ischemia/reperfusion injury. *J Immunol* 2006, **176** : 6313-6322

ZHANG Q, LIANG LW, GJERTSON DW, LASSMAN C, WILKINSON AH, et coll. Development of posttransplant antidonor HLA antibodies is associated with acute humoral rejection and early graft dysfunction. *Transplantation* 2005, **79** : 591-598

ZOU Y, STASTNY P, SUSAL C, DOHLER B, OPELZ G. Antibodies against MICA antigens and kidney-transplant rejection. *N Engl J Med* 2007, **357** : 1293-1300

# 3

## Origines et mécanismes du rejet chronique

La transplantation d'organes a permis de restaurer la fonction d'organes transplantés tels que le cœur, le poumon, le foie, l'intestin, le pancréas et le rein. Elle est associée à une augmentation de la survie des malades ayant une dysfonction de l'organe correspondant, en particulier lorsqu'il n'existe pas de technique de suppléance thérapeutique. Dans le cas de l'insuffisance rénale chronique pour laquelle l'hémodialyse chronique pallie la déficience de l'organe, la transplantation rénale améliore la qualité de vie et la survie des patients présentant une insuffisance rénale terminale (Wolfe et coll., 1999). Depuis le début des années 1980, la survie des greffons à un an a augmenté de manière très significative (plus de 90 % à un an) (Hariharan et coll., 2000 ; Pascual et coll., 2002). Néanmoins, les résultats à long terme ont peu changé et surtout le pourcentage de greffons perdus chaque année après la première année n'a pas évolué (Meier-Kriesche et coll., 2004). La mort avec un greffon fonctionnel et la néphropathie chronique d'allogreffe (NCA) sont les principales causes de la perte de greffon (Halloran et coll., 1999 ; Ojo et coll., 2000 ; Matas et coll., 2002 ; Pascual et coll., 2002). La prédominance de la NCA est de 60-70 % dès la première année post-greffe (Solez et coll., 1998 ; Nankivell et coll., 2003). La NCA est une entité qui regroupe différents mécanismes induisant une fibrose interstitielle et une atrophie tubulaire. L'histoire naturelle de la NCA a suggéré qu'elle puisse résulter de phénomènes immunologiques et de phénomènes non-immunologiques en particulier liés à la toxicité de l'inhibiteur de la calcineurine (CNI) (Nankivell et coll., 2003). Pour les autres organes, une dysfonction chronique est également observée et est responsable d'une perte prématurée du transplant.

### Classification de la néphropathie chronique d'allogreffe

Au cours des dernières années, des efforts importants ont été réalisés pour décrire et classer les dysfonctions chroniques d'organe. En transplantation



rénale, l'analyse histologique a permis dès 1990 de proposer une classification pour la dysfonction chronique d'allogreffe (Classification « Banff 97 » : Racusen et coll., 1999). Cette classification a été revisitée très régulièrement pour intégrer les données scientifiques les plus récentes et tenter de différencier les lésions associées au rejet chronique de celles observées en réponse à des facteurs de risque cardiovasculaire ou à la toxicité des inhibiteurs de la calcineurine. Le rapport de la réunion de Banff de 2005 a classé les dysfonctions chroniques du greffon. Il a différencié les lésions évocatrices de rejet chronique d'allogreffe (incluant les lésions dépendantes d'anticorps activant le complément) et l'artérite cellulaire et des lésions moins spécifiques de fibrose interstitielle/atrophie tubulaire (FI/AT) (Solez et coll., 2007 et 2008). Ces lésions de FI/AT apparaissent très précocement au décours de la greffe. À un an post-transplantation, plus de 80 % des reins ont des lésions minimales de FI/AT qui vont s'aggraver au cours du temps correspondant à plus de 50 % des cas de lésions sévères à 5 ans.

## Lésions histologiques observées

La compréhension des mécanismes impliqués dans la survenue du rejet chronique a grandement progressé depuis la description de modèles animaux chez le rongeur permettant de recréer les lésions d'artérite cellulaire dans différents modèles de greffe de cœur ou de vaisseaux allogéniques (Yuan et coll., 2002). Ainsi, il a pu être mis en évidence au cours du rejet chronique une augmentation de l'intima entraînant une diminution du calibre des vaisseaux, puis une destruction de la limitante élastique interne. L'épaississement est lié à une accumulation de matrice extracellulaire et à la prolifération de cellules myofibroblastiques (Pedagogos et coll., 1997 ; Pilmore et coll., 2000 ; Ramirez et coll., 2006). À la périphérie du vaisseau, une accumulation de macrophages et de lymphocytes T CD4 est observée (Thaumat et coll., 2005 et 2006 ; Thaumat et Nicoletti, 2008 ; Thaumat et coll., 2008). En revanche, les lymphocytes T CD8 sont rarement présents. Dans certains cas, des structures adoptant une organisation lymphoïde sont décrites. Elles comportent en majorité des lymphocytes B capables de synthétiser des anticorps dirigés contre le donneur. Ces lésions ont été mises également en évidence au niveau de greffons rénaux, ce phénomène est dénommé organogenèse lymphoïde tertiaire (Thaumat et coll., 2005 et 2006 ; Thaumat et Nicoletti, 2008 ; Thaumat et coll., 2008). Elle participe ainsi à la pérennisation du rejet chronique et possiblement à maintenir localement des lymphocytes T et B mémoires capables de synthèse de cytokines et d'anticorps. Les mécanismes de survie de ces lymphocytes et leur sensibilité aux différentes drogues immunosuppressives restent à démontrer et constituent un enjeu important pour le traitement du rejet chronique.

## Implication du système immunitaire

L'implication des lymphocytes dans la genèse des lésions de rejet chronique a pu être déterminée grâce à l'étude de souris génétiquement invalidées. Dans un modèle de souris dont les gènes codant pour CD40 ou pour CD40L (molécule de coactivation des lymphocytes T) ont été invalidés, les lésions de rejet chronique cardiaque ne sont pas observées suggérant que les lymphocytes T activés sont nécessaires pour l'initiation du phénomène de rejet chronique. Des résultats comparables sont observés en traitant les souris avec des anticorps anti-CD40L (Guillot et coll., 2002). En revanche, les anticorps bloquant les CD40L présents sur les cellules présentatrices d'antigène n'inhibent que faiblement la survenue de rejet chronique.

## Rôle des anticorps et des cellules endothéliales

L'implication des anticorps dirigés contre le greffon dans le rejet chronique a été suggérée par plusieurs groupes mettant en évidence une corrélation négative entre l'apparition d'anticorps dirigés contre le donneur ou l'obtention d'anticorps anti-donneur à partir de l'éluion d'organe transplanté et la survie de l'organe greffé (Sis et coll., 2007 ; Mao et coll., 2007a et b). L'apparition de nouvelles techniques d'identification des anticorps par FACS (cytométrie en flux), Luminex (cytométrie en flux avec des microbilles recouvertes de peptides) et ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) a permis une meilleure analyse de la situation (Pei et coll., 2003). De plus, les données récentes mettant en évidence, au cours de lésions de rejet chronique, l'existence de dépôts de C4d en immunofluorescence suggèrent l'implication des anticorps anti-HLA capables d'activer le complément (Nickeleit et coll., 2002 ; Regele et coll., 2002). Toutefois, les observations réalisées à partir des transplantations ABO incompatibles, situation dans laquelle une activation du complément est présente et au cours de laquelle on observe une réapparition d'anticorps anti-groupe sanguin associée à des dépôts de complément, suggère l'existence de mécanismes d'adaptation permettant aux cellules endothéliales de résister à l'activation du complément (Gloor et coll., 2006). Les différentes voies de survie et d'adaptation restent dans leur grande majorité inconnues. Ces observations ont également permis de comprendre que la survenue d'un rejet chronique n'est pas simplement le passage d'un état d'acceptation à une situation de rejet chronique mais un continuum entre ces deux bornes fondé sur un équilibre subtil entre des facteurs d'agression (lymphocytes T cytotoxiques, anticorps, complément...) et des mécanismes de survie et d'adaptation des cellules cibles.

Les effets des anticorps ne se limitent pas à l'activation du complément. Les anticorps peuvent soit se lier aux molécules de surface des cellules cibles soit recruter d'autres cellules par l'interaction de leur domaine constant avec le

récepteur Fc $\gamma$  des immunoglobulines (Rebellato et coll., 2006 ; Won et coll., 2006). Des données *in vitro* ont mis en évidence que la culture de cellules endothéliales avec des anticorps anti-donneurs entraîne une activation et une prolifération des cellules endothéliales (Bian et Reed, 1999). Cette étape d'activation est associée à l'expression de différents récepteurs à la surface des cellules endothéliales (PDGF-R, EGF-R, FGF-R) ainsi qu'à la synthèse de nombreux facteurs de croissance (PDGF, EGF, FGF, VEGF, TGF- $\beta$ ...) et à la synthèse d'endothéline I (Bian et Reed, 2001 ; Chen et coll., 2001 ; Rossini et coll., 2005). La présence locale de facteur de croissance est majorée par l'adhésion des plaquettes qui survient lors de l'activation des cellules endothéliales entraînant une boucle d'amplification locale en libérant de nombreux facteurs de croissance (PDGF, TGF- $\beta$ ) (MacDermott, 1996 ; Yang et coll., 2005). Cette phase d'activation des cellules endothéliales favorise la stimulation des cellules musculaires lisses via la libération d'endothéline I et indirectement la synthèse locale d'angiotensine II. Elle entraîne également le recrutement local de cellules inflammatoires via la libération de chimiokines (MCP1, IP10...) et du chémoattractant dépendant de l'activation locale du complément, active la coagulation locale en favorisant l'adhésion plaquettaire et en libérant du thromboxane A<sub>2</sub>. Enfin, elle stimule la différenciation et la prolifération des cellules qui synthétisent la matrice extracellulaire impliquée dans les lésions de rejet chronique, les myofibroblastes (Abbate et coll., 2002 ; Cogan et coll., 2002 ; Li et coll., 2007 ; Dewald et coll., 2005 ; Frangiannis, 2008 ; Haurani et coll., 2008 ; Kennard et coll., 2008 ; Wynn, 2008).

### **Antigènes majeurs et mineurs cible des anticorps**

Le facteur de risque indépendant pour le développement d'un rejet chronique est la présence d'anticorps anti-HLA de classe I et plus particulièrement de classe II (Ozawa et coll., 2007). Plus de 80 % des malades avec une glomérulopathie d'allogreffe ont des anticorps anti-HLA dont 85 % sont dirigés contre un antigène de classe I ou de classe II (Gloor et coll., 2007 ; Sis et coll., 2007 ; Issa et coll., 2008). Seule une fraction des biopsies (40 %) est associée avec des dépôts de C4d péri-capillaire soulignant que d'autres mécanismes que l'activation du complément peuvent être associés au rejet chronique ou que des distributions localisées des complexes antigènes-anticorps peuvent exister (Solez et coll., 2008).

En dehors des anticorps dirigés contre le complexe majeur d'histocompatibilité HLA, d'autres anticorps non HLA peuvent également contribuer aux changements structurels observés au cours du rejet chronique. Ils incluent les anticorps anti-MICA, MICB (*MHC class I-related molecules A and B*), anti-cellules endothéliales, anti-vimentine, et d'autres anticorps dirigés contre des récepteurs dont le récepteur de l'angiotensine II (Dragun et coll., 2005 ; Hilbrands et coll., 2005 ; Zafar et coll., 2006 ; Panigrahi et coll.,

2007 ; Zou et coll., 2007 ; Baid-Agrawal et Frei, 2008 ; Dragun et coll., 2008 ; Kamoun et Grossman, 2008 ; Sumitran-Holgersson, 2008). En dehors de MICA et MICB pour lesquels il existe un polymorphisme important, les autres constituants sont considérés comme des antigènes mineurs. Cependant, leur capacité immunogène peut être liée au fait qu'il existe un faible polymorphisme aboutissant à une présentation antigénique différente entre le donneur et le receveur ou à l'expression extracellulaire d'un certain nombre de constituants du cytosquelette aboutissant à une stimulation lymphocytaire. D'autres protéines seront probablement identifiées à l'avenir comme étant associées à la survenue de rejet aigu ou chronique.

## Origine et différenciation des cellules myofibroblastiques

Les cellules myofibroblastiques sont des constituants importants des lésions de rejet chronique. Ces cellules infiltrant la paroi des vaisseaux et l'espace interstitiel des organes. Ces cellules expriment différentes protéines du cytosquelette (vimentine, actine alpha du muscle lisse), la chaîne légère de la myosine mais n'expriment pas de marqueurs lymphoïdes ni épithéliaux (E cadhérine, ZO-1) (Badid et coll., 2002). L'origine de ces cellules est diverse et la part de chacun des compartiments cellulaires devra être précisée à l'avenir en fonction des organes concernés et des situations cliniques. Elles peuvent provenir de cellules souches circulantes capables de se différencier en cellules endothéliales ou en myocardiocytes (Direkze et coll., 2003 ; Li et coll., 2007). Elles peuvent également provenir de la transdifférenciation de cellules endothéliales qui vont acquérir un phénotype de cellules myofibroblastiques ou provenir de cellules épithéliales tubulaires rénales qui vont se transdifférencier en myofibroblastes (Gressner, 1996 ; Sommer et coll., 2005 ; Hertig et coll., 2006). Les mécanismes impliqués restent mal connus. Cependant, les modifications induites par l'ischémie/reperfusion, ou survenant au cours du rejet chronique semblent favoriser la transdifférenciation épithélio-mésenchymateuse (TEM). Il a été mis en évidence que le TGF- $\beta$  avait également un rôle important en favorisant la TEM et en permettant l'amplification des cellules myofibroblastiques (Fan et coll., 1999 ; Mezzano et coll., 2003 ; Lindert et coll., 2005 ; Jiang et coll., 2006 ; Meyer-ter-Vehn et coll., 2006).

## Implication des facteurs de croissance

La différenciation de cellules en myofibroblastes et leur expansion impliquent différents facteurs de croissance incluant le TGF- $\beta$ , le FGF, le PDGF, l'IGF1, l'angiotensine II, le MCP1, le RANTES, le TNF- $\alpha$ , l'IL-15 et le

CTGF. Ces différents facteurs pourraient participer à des degrés divers à l'initiation de la TEM, à l'expansion de ces cellules et à leur migration (Huang et coll., 2005 ; Jiang et coll., 2007 ; Gao et coll., 2008 ; Rodrigues-Diez et coll., 2008).

L'acteur actuellement le plus étudié est le TGF- $\beta$  qui, en activant les facteurs de transcription STAT 2 et 3, induit la TEM et favorise la synthèse d'autres molécules comme le CTGF. Il permet ensuite la prolifération des cellules myofibroblastiques et la synthèse par ces cellules des différents constituants de la matrice extracellulaire. La TEM et l'action du TGF- $\beta$  peuvent à ce jour être inhibées par deux facteurs de croissance ayant une activité antagoniste à celle du TGF- $\beta$ . L'*Hepatocyte Growth Factor* (HGF) bloque *in vitro* la TEM induite par le TGF- $\beta$  permettant ainsi aux cellules myofibroblastiques de réacquérir un phénotype de cellules épithéliales (E-cadhérine+, ZO-1+,  $\alpha$ SMA-). Les voies de signalisation et les mécanismes impliqués ne sont pas encore connus (Sobral et coll., 2007 ; Shukla et coll., 2008). Le second facteur est la *Bone Morphogenic Protein* (BMP7) (You et Kruse, 2002). Cette protéine active, en se fixant sur son récepteur, différentes voies de signalisation antagonistes de celles activées par le TGF- $\beta$ . Elle induit l'activation par phosphorylation de Smad1, Smad5 et Smad8. Ceci bloque la liaison du complexe Smad2/3 sur ses séquences ADN consensus empêchant ainsi son action de médiateur du signal transmis par le TGF- $\beta$  (Saika et coll., 2005). La perfusion de BMP7 dans un modèle de rejet chronique permet d'inhiber la survenue du rejet chronique.

Le FGF a également un rôle important (Lee et Joo, 1999 ; Ng et coll., 1999 ; Chaudhary et coll., 2007). Il participe à la prolifération des cellules myofibroblastiques mais également à la formation de néovaisseaux qui pourraient faciliter le développement des lésions de rejet chronique. Une place clé semble également se dessiner pour l'IL-15, une cytokine produite par les cellules endothéliales et qui a des actions multiples de part ses fonctions autocrines ou paracrines (Briard et coll., 2005 ; Giron-Michel et coll., 2005 ; Atherly et coll., 2006 ; Dubois et coll., 2006). Elle transmet des signaux de survie dans la cellule épithéliale (autocrine) et facilite la survie et l'activation des lymphocytes T intra-épithéliaux. Lorsqu'elle est sous forme soluble et complexée à un récepteur soluble, elle peut chez l'homme, induire dans certaines situations une TEM. Le PDGF joue aussi un rôle important en activant les cellules endothéliales et en favorisant la synthèse d'endothéline I.

Les molécules impliquées dans l'activation des cellules endothéliales pourraient également avoir un rôle de starter ou intervenir pour pérenniser les lésions de rejet chronique. C'est le cas de l'endothéline I et de l'angiotensine II. L'implication de l'angiotensine II a été suspectée depuis de nombreuses années dans différents modèles d'hypertension induite par la déplétion en monoxyde. Récemment, il a également été mis en évidence que l'existence d'anticorps dirigés contre le récepteur de l'angiotensine II était associée à la

survenue d'un rejet chronique. Ces derniers résultats montrent bien l'intrication qui peut exister entre les mécanismes immunologiques et non immunologiques du rejet.

## Immunosuppresseurs et régulation du rejet chronique

Bien que les inhibiteurs de la calcineurine (ciclosporine A (CsA), FK506) conduisent à une amélioration significative de la survie à court terme du greffon, leur utilisation à long terme peut être un élément important dans la survenue d'une FI/AT (Nankivell et coll., 2004a et b ; Cosio et coll., 2007). Parmi les autres immunosuppresseurs, les inhibiteurs de la voie mTOR ne semblent pas montrer le même niveau de néphrotoxicité. Ils pourraient même, en bloquant le cycle cellulaire de myofibroblastes, limiter certaines lésions induites au cours du rejet chronique. Ils inhibent également la synthèse du VEGF mais surtout les voies de signalisation dépendantes de son récepteur. Ce mécanisme d'action pourrait favoriser leur utilisation pour la prévention du rejet chronique (Mulay et coll., 2006 ; Najafian et Kasiske, 2008). Cependant, ceci doit être balancé par la découverte de lésions glomérulaires induites sur le rein normal (Sartelet et coll., 2005).

L'impact des différentes drogues sur la prévention et le traitement de la dysfonction chronique du rejet chronique reste encore inconnu et sa compréhension nécessitera des études complémentaires. D'autres molécules bloquant différentes voies participant au développement d'un rejet chronique devront être évaluées dans la prévention du rejet chronique. Ainsi, les inhibiteurs du récepteur de l'angiotensine II devraient pouvoir réduire les effets délétères sur la greffe des anticorps dirigés contre ce récepteur.

## Fibrose tissulaire

Au cours des différentes agressions immunologiques et non immunologiques, les cellules, en particulier les cellules endothéliales, vont être responsables du développement d'une matrice extracellulaire par la synthèse de facteurs de croissance ou de cytokines tels que l'endothéline I, l'angiotensine II, le TNF, le PDGF, le TGF... (Coupes et coll., 1994 ; Lu et coll., 2002 ; El Agroudy et coll., 2003 ; Baczkowska et coll., 2005 ; Summers et coll., 2005 ; Roos-van Groningen et coll., 2006). La matrice extracellulaire accumulée constitue une lésion de fibrose. Au cours des dernières années, il est apparu que la fibrose tissulaire représente un équilibre dynamique. La fibrose peut être prévenue ou la matrice extracellulaire être dégradée en utilisant des molécules bloquantes ou en activant différentes protéases tissulaires dont les métalloprotéases. Ces approches restent à valider dans des modèles cliniques.

## Autres facteurs impliqués dans la dysfonction de greffon

Un certain nombre d'autres facteurs de risque cliniques ont été associés à une dysfonction de greffon. Ils incluent ou non des facteurs immunologiques.

L'un d'entre eux est l'âge du donneur. Il a pu être mis en évidence que la greffe d'un organe provenant d'un donneur âgé est associée à une augmentation de l'incidence de rejet aigu et chronique (Schramme et coll., 2008). Ceci est corrélé avec l'apparition d'une sénescence de l'organe aboutissant à la libération de cytokines pro-inflammatoires (interféron gamma, IL-2) et à l'expression de molécules pouvant directement ou indirectement induire l'expression des néo-antigènes ( $\beta$  galactosidase). Également différentes situations de stress telles que l'ischémie ou d'infections par des virus, des bactéries, des levures peuvent stimuler et activer une réponse allogénique chronique (Miller et coll., 2008).

La régulation locale de l'immunité innée devrait permettre de limiter l'impact de ces événements sur la survenue d'un rejet chronique.

**En conclusion**, alors que des avancées importantes ont été réalisées dans le cadre des thérapies immunosuppressives permettant des réductions importantes de la survenue de rejet aigu et une amélioration de la survie de greffon à un an, la survie de greffon à plus long terme n'a que peu progressé. La limite de la survie à long terme est liée à des mécanismes complexes et intriqués incluant le rejet chronique, la toxicité des immunosuppresseurs, les facteurs cardiovasculaires, dyslipidémiques, le diabète... La compréhension des mécanismes impliqués dans la survenue d'un rejet chronique devrait bénéficier d'approches telles que les puces à ARN ou les puces protéiques permettant de mieux comprendre les différentes étapes du développement d'un rejet chronique et les différents acteurs impliqués. Cette compréhension permettra le développement de nouvelles approches thérapeutiques et/ou préventives en transplantation d'organes.

## BIBLIOGRAPHIE

ABBATE M, ZOJA C, ROTTOLI D, CORNA D, TOMASONI S, REMUZZI G. Proximal tubular cells promote fibrogenesis by TGF-beta1-mediated induction of peritubular myofibroblasts. *Kidney Int* 2002, **61** : 2066-2077

ATHERLY LO, LUCAS JA, FELICES M, YIN CC, REINER SL, BERG LJ. The Tec family tyrosine kinases Itk and Rlk regulate the development of conventional CD8+ T cells. *Immunity* 2006, **25** : 79-11

BACZKOWSKA T, PERKOWSKA-PTASINSKA A, SADOWSKA A, LEWANDOWSKI Z, NOWACKA-CIECIURA E, et coll. Serum TGF-beta1 correlates with chronic

histopathological lesions in protocol biopsies of kidney allograft recipients. *Transplant Proc* 2005, **37** : 773-775

BADID C, DESMOULIERE A, BABICI D, HADJ-AISSA A, MCGREGOR B, et coll. Interstitial expression of alpha-SMA: an early marker of chronic renal allograft dysfunction. *Nephrol Dial Transplant* 2002, **17** : 1993-1998

BAID-AGRAWAL S, FREI UA. Kidney-transplant rejection and anti-MICA antibodies. *N Engl J Med* 2008, **358** : 196

BIAN H, REED EF. Alloantibody-mediated class I signal transduction in endothelial cells and smooth muscle cells: enhancement by IFN-gamma and TNF-alpha. *J Immunol* 1999, **163** : 1010-1018

BIAN H, REED EF. Anti-HLA class I antibodies transduce signals in endothelial cells resulting in FGF receptor translocation, down-regulation of ICAM-1 and cell proliferation. *Transplant Proc* 2001, **33** : 311

BRIARD D, AZZARONE B, BROUTY-BOYE D. Importance of stromal determinants in the generation of dendritic and natural killer cells in the human spleen. *Clin Exp Immunol* 2005, **140** : 265-273

CHAUDHARY NI, ROTH GJ, HILBERG F, MÜLLER-QUERNHEIM J, PRASSE A, et coll. Inhibition of PDGF, VEGF and FGF signalling attenuates fibrosis. *Eur Respir J* 2007, **29** : 976-985

CHEN J, FABRY B, SCHIFFRIN EL, WANG N. Twisting integrin receptors increases endothelin-1 gene expression in endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001, **280** : C1475-C1484

COGAN JG, SUBRAMANIAN SV, POLIKANDRIOTIS JA, KELM RJ JR, STRAUCH AR. Vascular smooth muscle alpha-actin gene transcription during myofibroblast differentiation requires Sp1/3 protein binding proximal to the MCAT enhancer. *J Biol Chem* 2002, **277** : 36433-36442

COSIO FG, AMER H, GRANDE JP, LARSON TS, STEGALL MD, GRIFFIN MD. Comparison of low versus high tacrolimus levels in kidney transplantation: assessment of efficacy by protocol biopsies. *Transplantation* 2007, **83** : 411-416

COUPES BM, NEWSTEAD CG, SHORT CD, BRENCHLEY PE. Transforming growth factor beta 1 in renal allograft recipients. *Transplantation* 1994, **57** : 1727-1731

DEWALD O, ZYMEK P, WINKELMANN K, KOERTING A, REN G, et coll. CCL2/Monocyte Chemoattractant Protein-1 regulates inflammatory responses critical to healing myocardial infarcts. *Circ Res* 2005, **96** : 881-889

DIREKZE NC, FORBES SJ, BRITTAN M, HUNT T, JEFFERY R, et coll. Multiple organ engraftment by bone-marrow-derived myofibroblasts and fibroblasts in bone-marrow-transplanted mice. *Stem Cells* 2003, **21** : 514-520

DRAGUN D, MULLER DN, BRASEN JH, FRITSCHKE L, NIEMINEN-KELHÄ M, et coll. Angiotensin II type 1-receptor activating antibodies in renal-allograft rejection. *N Engl J Med* 2005, **352** : 558-569

DRAGUN D, SCORNIK J, MEIER-KRIESCHKE HU. Kidney-transplant rejection and anti-MICA antibodies. *N Engl J Med* 2008, **358** : 196



DUBOIS S, WALDMANN TA, MULLER JR. ITK and IL-15 support two distinct subsets of CD8+ T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006, **103** : 12075-12080

EL-AGROUDY AE, HASSAN NA, FODA MA, ISMAIL AM, EL-SAWY EA, et coll. Effect of angiotensin II receptor blocker on plasma levels of TGF-beta 1 and interstitial fibrosis in hypertensive kidney transplant patients. *Am J Nephrol* 2003, **23** : 300-306

FAN JM, NG YY, HILL PA, NIKOLIC-PATERSON DJ, MU W, et coll. Transforming growth factor-beta regulates tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation in vitro. *Kidney Int* 1999, **56** : 1455-1467

FRANGOGIANNIS NG. The immune system and cardiac repair. *Pharmacol Res* 2008, **58** : 88-111

GAO X, LI J, HUANG H, LI X. Connective tissue growth factor stimulates renal cortical myofibroblast-like cell proliferation and matrix protein production. *Wound Repair Regen* 2008, **16** : 408-415

GIRON-MICHEL J, GIULIANI M, FOGLI M, BROUTY-BOYÉ D, FERRINI S, et coll. Membrane-bound and soluble IL-15/IL-15Ralpha complexes display differential signaling and functions on human hematopoietic progenitors. *Blood* 2005, **106** : 2302-2310

GLOOR JM, COSIO FG, REA DJ, WADEI HM, WINTERS JL, et coll. Histologic findings one year after positive crossmatch or ABO blood group incompatible living donor kidney transplantation. *Am J Transplant* 2006, **6** : 1841-1847

GLOOR JM, SETHI S, STEGALL MD, PARK WD, MOORE SB, et coll. Transplant glomerulopathy: subclinical incidence and association with alloantibody. *Am J Transplant* 2007, **7** : 2124-2132

GRESSNER AM. Transdifferentiation of hepatic stellate cells (Ito cells) to myofibroblasts: a key event in hepatic fibrogenesis. *Kidney Int Suppl* 1996, **54** : S39-S45

GUILLOT C, GUILLONNEAU C, MATHIEU P, GERDES CA, MÉNORET S, et coll. Prolonged blockade of CD40-CD40 ligand interactions by gene transfer of CD40Ig results in long-term heart allograft survival and donor-specific hyporesponsiveness, but does not prevent chronic rejection. *J Immunol* 2002, **168** : 1600-1609

HALLORAN PF, MELK A, BARTH C. Rethinking chronic allograft nephropathy: the concept of accelerated senescence. *J Am Soc Nephrol* 1999, **10** : 167-181

HARIHARAN S, JOHNSON CP, BRESNAHAN BA, TARANTO SE, MCINTOSH MJ, STABLEIN D. Improved graft survival after renal transplantation in the United States, 1988 to 1996. *N Engl J Med* 2000, **342** : 605-612

HAURANI MJ, CIFUENTES ME, SHEPARD AD, PAGANO PJ. Nox4 oxidase overexpression specifically decreases endogenous Nox4 mRNA and inhibits angiotensin II-induced adventitial myofibroblast migration. *Hypertension* 2008, **52** : 143-149

HERTIG A, VERINE J, MOUGENOT B, JOUANNEAU C, OUALI N, et coll. Risk factors for early epithelial to mesenchymal transition in renal grafts. *Am J Transplant* 2006, **6** : 2937-2946

HILBRANDS L, HOITSMA A, WETZELS J. Angiotensin II type 1-receptor activating antibodies in renal-allograft rejection. *N Engl J Med* 2005, **352** : 2027-2028

HUANG HC, YANG M, LI JZ, WANG HY. Connective tissue growth factor promotes the proliferation of myofibroblast through Erk-1/2 signaling pathway. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2005, **85** : 1322-1326

ISSA N, COSIO FG, GLOOR JM, SETHI S, DEAN PG, et coll. Transplant glomerulopathy: risk and prognosis related to anti-human leukocyte antigen class II antibody levels. *Transplantation* 2008, **86** : 681-685

JIANG YL, DAI AG, LI QF, HU RC. Transforming growth factor-beta1 induces transdifferentiation of fibroblasts into myofibroblasts in hypoxic pulmonary vascular remodeling. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2006, **38** : 29-36

JIANG Z, YU P, TAO M, FERNANDEZ C, IFANTIDES C, et coll. TGF-beta- and CTGF-mediated fibroblast recruitment influences early outward vein graft remodeling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007, **293** : H482-H488

KAMOUN M, GROSSMAN RA. Kidney-transplant rejection and anti-MICA antibodies. *N Engl J Med* 2008, **358** : 195

KENNARD S, LIU H, LILLY B. Transforming growth factor-beta (TGF- 1) down-regulates Notch3 in fibroblasts to promote smooth muscle gene expression. *J Biol Chem* 2008, **283** : 1324-1333

LEE EH, JOO CK. Role of transforming growth factor-beta in transdifferentiation and fibrosis of lens epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999, **40** : 2025-2032

LI J, DEANE JA, CAMPANALE NV, BERTRAM JF, RICARDO SD. The contribution of bone marrow-derived cells to the development of renal interstitial fibrosis. *Stem Cells* 2007, **25** : 697-706

LINDERT S, WICKERT L, SAWITZA I, WIERCINSKA E, GRESSNER AM, et coll. Transdifferentiation-dependent expression of alpha-SMA in hepatic stellate cells does not involve TGF-beta pathways leading to coinduction of collagen type I and thrombospondin-2. *Matrix Biol* 2005, **24** : 198-207

LU KC, JARAMILLO A, LECHA RL, SCHUESSLER RB, ALOUSH A, et coll. Interleukin-6 and interferon-gamma gene polymorphisms in the development of bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *Transplantation* 2002, **74** : 1297-1302

MACDERMOTT RP. Alterations of the mucosal immune system in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol* 1996, **31** : 907-916

MAO Q, TERASAKI PI, CAI J, BRILEY K, CATROU P, et coll. Extremely high association between appearance of HLA antibodies and failure of kidney grafts in a five-year longitudinal study. *Am J Transplant* 2007a, **7** : 864-871

MAO Q, TERASAKI PI, CAI J, EL-AWAR N, REBELLATO L. Analysis of HLA class I specific antibodies in patients with failed allografts. *Transplantation* 2007b, **83** : 54-61

MATAS AJ, HUMAR A, GILLINGHAM KJ, PAYNE WD, GRUESSNER RW, et coll. Five preventable causes of kidney graft loss in the 1990s: a single-center analysis. *Kidney Int* 2002, **62** : 704-714

MEIER-KRIESCHE HU, SCHOLD JD, KAPLAN B. Long-term renal allograft survival: have we made significant progress or is it time to rethink our analytic and therapeutic strategies? *Am J Transplant* 2004, **4** : 1289-1295

MEYER-TER-VEHN T, SIEPRATH S, KATZENBERGER B, GEBHARDT S, GREHN F, SCHLUNCK G. Contractility as a prerequisite for TGF-beta-induced myofibroblast transdifferentiation in human tenon fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006, **47** : 4895-4904

MEZZANO SA, AROS CA, DROGUETT A, BURGOS ME, ARDILES LG, et coll. Renal angiotensin II up-regulation and myofibroblast activation in human membranous nephropathy. *Kidney Int Suppl* 2003, **86** : S39-S45

MILLER DM, THORNLEY TB, GREINER DL, ROSSINI AA. Viral infection: a potent barrier to transplantation tolerance. *Clin Dev Immunol* 2008, **2008** : 742810

MULAY AV, COCKFIELD S, STRYKER R, FERGUSON D, KNOLL GA. Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus for chronic renal allograft dysfunction: a systematic review of the evidence. *Transplantation* 2006, **82** : 1153

NAJAFIAN B, KASISKE BL. Chronic allograft nephropathy. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2008, **17** : 149-155

NANKIVELL BJ, BORROWS RJ, FUNG CL, O'CONNELL PJ, ALLEN RD, CHAPMAN JR. The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med* 2003, **349** : 2326-2333

NANKIVELL BJ, BORROWS RJ, FUNG CL, O'CONNELL PJ, CHAPMAN JR, ALLEN RD. Calcineurin inhibitor nephrotoxicity: longitudinal assessment by protocol histology. *Transplantation* 2004a, **78** : 557-565

NANKIVELL BJ, BORROWS RJ, FUNG CL, O'CONNELL PJ, ALLEN RD, CHAPMAN JR. Natural history, risk factors, and impact of subclinical rejection in kidney transplantation. *Transplantation* 2004b, **78** : 242-249

NG YY, FAN JM, MU W, NIKOLIC-PATERSON DJ, YANG WC, et coll. Glomerular epithelial-myofibroblast transdifferentiation in the evolution of glomerular crescent formation. *Nephrol Dial Transplant* 1999, **14** : 2860-2872

NICKELEIT V, ZEILER M, GUDAT F, THIEL G, MIHATSCH MJ. Detection of the complement degradation product C4d in renal allografts: diagnostic and therapeutic implications. *J Am Soc Nephrol* 2002, **13** : 242-251

OJO AO, HANSON JA, WOLFE RA, LEICHTMAN AB, AGODOA LY, PORT FK. Long-term survival in renal transplant recipients with graft function. *Kidney Int* 2000, **57** : 307-313

OZAWA M, TERASAKI PI, LEE JH, CASTRO R, ALBERU J, et coll. 14th International HLA and Immunogenetics Workshop: report on the Prospective Chronic Rejection Project. *Tissue Antigens* 2007, **69** (suppl 1) : 174-179

PANIGRAHI A, SIDDIQUI JA, RAI A, MARGOAB A, KHAIRA A, et coll. Allosensitization to HLA and MICA is an important measure of renal graft outcome. *Clin Transpl* 2007, 211-217

PASCUAL M, THERUVATH T, KAWAI T, TOLKOFF-RUBIN N, COSIMI AB. Strategies to improve long-term outcomes after renal transplantation. *N Engl J Med* 2002, **346** : 580-590

PEDAGOGOS E, HEWITSON TD, WALKER RG, NICHOLIS KM, BECKER GJ. Myofibroblast involvement in chronic transplant rejection. *Transplantation* 1997, **64** : 1192-1197

PEI R, LEE JH, SHIH NJ, CHEN M, TERASAKI PI. Single human leukocyte antigen flow cytometry beads for accurate identification of human leukocyte antigen antibody specificities. *Transplantation* 2003, **75** : 43-49

PILMORE HL, PAINTER DM, BISHOP GA, MCCAUGHAN GW, ERIS JM. Early up-regulation of macrophages and myofibroblasts: a new marker for development of chronic renal allograft rejection. *Transplantation* 2000, **69** : 2658-2662

RACUSEN LC, SOLEZ K, COLVIN RB, BONSI B, CASTRO MC, et coll. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int* 1999, **55** : 713-723

RAMIREZ AM, SHEN Z, RITZENTHALER JD, ROMAN J. Myofibroblast transdifferentiation in obliterative bronchiolitis: tgf-beta signaling through smad3-dependent and -independent pathways. *Am J Transplant* 2006, **6** : 2080-2088

REBELLATO LM, OZAWA M, VERBANAC KM, CATROU P, HAISCH CE, TERASAKI PI. Clinical and anti-HLA antibody profile of nine renal transplant recipients with failed grafts: donor-specific and non-donor-specific antibody development. *Clin Transpl* 2006, 241-253

REGELE H, BOHMIG GA, HABICHT A, GOLLOWITZER D, SCHILLINGER M, et coll. Capillary deposition of complement split product C4d in renal allografts is associated with basement membrane injury in peritubular and glomerular capillaries: a contribution of humoral immunity to chronic allograft rejection. *J Am Soc Nephrol* 2002, **13** : 2371-2380

RODRIGUES-DIEZ R, CARVAJAL-GONZALEZ G, SANCHEZ-LOPEZ E, RODRÍGUEZ-VITA J, RODRIGUES DÍEZ R, et coll. Pharmacological modulation of epithelial mesenchymal transition caused by angiotensin II. Role of ROCK and MAPK pathways. *Pharm Res* 2008, **25** : 2447-2461

ROOS-VAN GRONINGEN MC, SCHOLTEN EM, LELIEVELD PM, ROWSHANI AT, BAELEDE HJ, et coll. Molecular comparison of calcineurin inhibitor-induced fibrogenic responses in protocol renal transplant biopsies. *J Am Soc Nephrol* 2006, **17** : 881-888

ROSSINI M, CHEUNSUCHON B, DONNERT E, MA LJ, THOMAS JW, et coll. Immunolocalization of fibroblast growth factor-1 (FGF-1), its receptor (FGFR-1), and fibroblast-specific protein-1 (FSP-1) in inflammatory renal disease. *Kidney Int* 2005, **68** : 2621-2628

SAIKA S, IKEDA K, YAMANAKA O, FLANDERS KC, NAKAJIMA Y, et coll. Therapeutic effects of adenoviral gene transfer of bone morphogenetic protein-7 on a corneal alkali injury model in mice. *Lab Invest* 2005, **85** : 474-486

SARTELET H, TOUPANCE O, LORENZATO M, FADEL F, NOEL LH, et coll. Sirolimus-induced thrombotic microangiopathy is associated with decreased expression of vascular endothelial growth factor in kidneys. *Am J Transplant* 2005, **5** : 2441-2447

SCHRAMME A, ABDEL-BAKKY MS, GUTWEIN P, OBERMÜLLER N, BAER PC, et coll. Characterization of CXCL16 and ADAM10 in the normal and transplanted kidney. *Kidney Int* 2008, **74** : 328-338

SHUKLA MN, ROSE JL, RAY R, LATHROP KL, RAY A, RAY P. Hepatocyte growth factor inhibits epithelial to myofibroblast transition in lung cells via Smad7. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2008 Nov 6. Epub ahead of print

SIS B, CAMPBELL PM, MUELLER T, HUNTER C, COCKFIELD SM, et coll. Transplant glomerulopathy, late antibody-mediated rejection and the ABCD tetrad in kidney allograft biopsies for cause. *Am J Transplant* 2007, **7** : 1743-1752

SOBRAL LM, MONTAN PF, MARTELLI-JUNIOR H, GRANER E, COLETTA RD. Opposite effects of TGF-beta1 and IFN-gamma on transdifferentiation of myofibroblast in human gingival cell cultures. *J Clin Periodontol* 2007, **34** : 397- 406. Epub 2007 Apr 2

SOLEZ K, VINCENTI F, FILO RS. Histopathologic findings from 2-year protocol biopsies from a U.S. multicenter kidney transplant trial comparing tarolimus versus cyclosporine: a report of the FK506 Kidney Transplant Study Group. *Transplantation* 1998, **66** : 1736-1740

SOLEZ K, COLVIN RB, RACUSEN LC, SIS B, HALLORAN PF, et coll. Banff '05 Meeting Report: differential diagnosis of chronic allograft injury and elimination of chronic allograft nephropathy ('CAN'). *Am J Transplant* 2007, **7** : 518-528

SOLEZ K, COLVIN RB, RACUSEN LC, HAAS M, SIS B, et coll. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant* 2008, **8** : 753-760

SOMMER M, GERTH J, STEIN G, WOLF G. Transdifferentiation of endothelial and renal tubular epithelial cells into myofibroblast-like cells under in vitro conditions: a morphological analysis. *Cells Tissues Organs* 2005, **180** : 204-214

SUMITRAN-HOLGERSSON S. Relevance of MICA and other non-HLA antibodies in clinical transplantation. *Curr Opin Immunol* 2008, **20** : 607-613

SUMMERS AM, COUPES BM, BRENNAN MF, RALPH SA, SHORT CD, BRENCHLEY PE. VEGF -460 genotype plays an important role in progression to chronic kidney disease stage 5. *Nephrol Dial Transplant* 2005, **20** : 2427-2432. Epub 2005 Jul 26

THAUNAT O, NICOLETTI A. Lymphoid neogenesis in chronic rejection. *Curr Opin Organ Transplant* 2008, **13** : 16-19

THAUNAT O, FIELD AC, DAI J, LOUEDEC L, PATEY N, et coll. Lymphoid neogenesis in chronic rejection: evidence for a local humoral alloimmune response. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005, **102** : 14723-14728

THAUNAT O, PATEY N, MORELON E, MICHEL JB, NICOLETTI A. Lymphoid neogenesis in chronic rejection: the murderer is in the house. *Curr Opin Immunol* 2006, **18** : 576-579

THAUNAT O, PATEY N, GAUTREAU C, LECHATON S, FREMEAUX-BACCHI V, et coll. B cell survival in intragraft tertiary lymphoid organs after rituximab therapy. *Transplantation* 2008, **85** : 1648-1653

- WOLFE RA, ASHBY VB, MILFORD EL, OJO AO, ETTENGER RE, et coll. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med* 1999, **341** : 1725-1730
- WON DI, JEONG HD, KIM YL, SUH JS. Simultaneous detection of antibody binding and cytotoxicity in flow cytometry crossmatch for renal transplantation. *Cytometry B Clin Cytom* 2006, **70** : 82-90
- WYNN TA. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol* 2008, **214** : 199-210
- YANG WS, HAN NJ, KIM CS, AHN H, LEE SK, et coll. STAT1-independent down-regulation of interferon-gamma-induced class II transactivator and HLA-DR expression by transforming growth factor beta-1 in human glomerular endothelial cells. *Nephron Exp Nephrol* 2005, **100** : e124-131
- YOU L, KRUSE FE. Differential effect of activin A and BMP-7 on myofibroblast differentiation and the role of the Smad signaling pathway. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002, **43** : 72-81
- YUAN X, DONG VM, COITO AJ, WAAGA AM, SALAMA AD, et coll. A novel CD154 monoclonal antibody in acute and chronic rat vascularized cardiac allograft rejection. *Transplantation* 2002, **73** : 1736-1742
- ZAFAR MN, TERASAKI PI, NAQVI SA, RIZVI SA. Non-HLA antibodies after rejection of HLA identical kidney transplants. *Clin Transpl* 2006, 421-426
- ZOU Y, STASTNY P, SUSAL C, DOHLER B, OPELZ G. Antibodies against MICA antigens and kidney-transplant rejection. *N Engl J Med* 2007, **357** : 1293-1300



# II

## Immunosuppression et transplantation





## 4

## Prévention et traitement des rejets

La prévention des différents types de rejet repose sur l'appariement donneur/receveur et sur le choix du traitement immunosuppresseur en fonction principalement du risque immunologique du receveur. La conception du traitement immunosuppresseur s'appuie sur l'association d'un traitement dit « d'induction », c'est-à-dire un traitement qui est censé diminuer l'incidence du rejet aigu dans les 3 mois qui suivent la transplantation, et d'un traitement dit « de maintenance » qui est destiné à limiter ou prévenir le développement du rejet chronique après cette période initiale. Toutefois, dans la pratique courante, le terme d'induction a été réservé à des traitements biologiques comme les anticorps anti-lymphocyte ou les anticorps monoclonaux anti-récepteur de l'interleukine 2. Ces traitements sont administrés au tout début de la transplantation, en même temps que d'autres immunosuppresseurs qui eux, seront maintenus après la phase initiale même si les doses sont réduites. Le terme d'induction a été choisi car dans des modèles expérimentaux, certains de ces traitements ont pu entraîner une « induction de tolérance ». Le traitement curatif des rejets quant à lui, repose d'abord sur la définition la plus précise possible du type de rejet et donc de son mécanisme physiopathologique.

### Traitement des rejets en transplantation rénale

Nous diviserons un peu artificiellement ce chapitre en deux sous-parties, le traitement curatif du rejet aigu qui est efficace et comprend différentes modalités et le traitement du rejet chronique qui est encore balbutiant et donc peu efficace.

La prévention du rejet aigu en transplantation rénale repose sur :

- une trithérapie associant des stéroïdes à faible dose, un inhibiteur de la synthèse de l'ADN, le plus souvent inhibiteur de l'IMPDH (inosine monophosphate déshydrogénase) et un immunosuppresseur de la famille des anti-calciéurines (ciclosporine ou tacrolimus), ce dernier pouvant être introduit d'emblée ou de façon retardée de quelques jours en cas de reprise retardée de fonction rénale ;

- un traitement dit « d'induction » en fonction du risque immunologique : ce traitement est soit absent, soit constitué d'anticorps monoclonaux anti-récepteur de l'interleukine 2 en cas de risque faible et d'anticorps polyclonaux anti-lymphocyte en cas de risque élevé.

Les différents immunosuppresseurs sont ensuite modulés en fonction de leur suivi pharmacocinétique, de leur efficacité et de leurs effets secondaires. Globalement, l'incidence de rejet aigu est à l'heure actuelle inférieure à 15 % avec une proportion croissante de rejets aigus humoraux.

### Traitement curatif du rejet aigu

Le traitement du rejet aigu est longtemps resté relativement, voire très monolithique. En effet, le recours aux stéroïdes est très ancien puisqu'il était déjà décrit par Jean Hamburger en 1962 (Hamburger et coll., 1962) comme traitement de ce que l'on appelait alors « la crise de rejet ». L'introduction des agents dits « biologiques » tels que les sérums anti-lymphocytaires (Woodruff et coll., 1967) et plus tard, les anticorps murins anti-CD3 (Cosimi et coll., 1981) a modifié historiquement l'approche du traitement.

Très schématiquement, les rejets aigus cellulaires étaient traités par de fortes doses de stéroïdes administrés soit par voie orale, soit sous formes de bolus<sup>3</sup> de méthylprednisolone. Les formes considérées comme les plus sévères, soit d'emblée (si la biopsie mettait en évidence des lésions vasculaires), soit secondairement en cas d'échec total ou partiel des stéroïdes (les formes dites « cortico-résistantes »), bénéficiaient d'une seconde ligne de traitement soit par les anticorps anti-lymphocytes polyclonaux (de cheval puis de lapin), soit par les anticorps murins monoclonaux anti-CD3.

À l'heure actuelle, l'identification des différents types de rejet aigu a permis de modifier ce schéma thérapeutique un peu trop simpliste. On considère en effet, qu'il existe des rejets aigus cellulaires, médiés par les lymphocytes T et des rejets aigus humoraux liés à des lymphocytes B et médiés par des anticorps. Cette division est évidemment trop simpliste mais elle sert de support à un traitement différentiel du rejet aigu (Racusen et coll., 2003).

En pratique courante, en cas de rejet aigu cellulaire avec une négativité du marqueur C4d sur les capillaires périlitubulaires et en l'absence d'anticorps circulants dirigés contre le donneur, le traitement consiste toujours à administrer des stéroïdes à fortes doses par voie intraveineuse, relayées par de fortes doses orales pendant une période de quelques jours à quelques semaines. En cas d'échec ou d'efficacité insuffisante, le rejet aigu est considéré comme

« cortico-résistant » et les anticorps anti-lymphocytes poly- ou monoclonaux sont utilisés. Ce traitement est relativement bien codifié.

En revanche, en cas de rejet aigu humoral avec une positivité du marqueur C4d sur les capillaires pérítubulaires (Feucht et coll., 1993) et la présence d'anticorps circulants dirigés contre le donneur, le traitement est moins bien codifié. Le traitement associe à des titres divers, des stéroïdes à fortes doses mais également des échanges plasmatiques destinés à épurer ces anticorps délétères, des immunoglobulines polyvalentes aux mécanismes d'actions multiples et des anticorps anti-CD20 (Venetz et Pascual, 2007). En dépit d'une efficacité démontrée sur les lésions de rejet aigu humoral, il n'existe pas encore de consensus quant au rôle respectif des différents traitements sus-cités. La réalité est encore plus complexe dans la mesure où les caractéristiques cliniques des rejets ne sont pas toujours aussi caricaturales et que des formes cellulaires et humorales peuvent être associées. Il est donc particulièrement important de continuer à travailler sur la définition des rejets aigus pour préciser au mieux la place des traitements dont nous disposons à l'heure actuelle (Solez et coll., 2008).

Les besoins en nouvelles molécules sont donc évidents pour d'une part, diminuer la toxicité des stéroïdes à fortes doses et d'autre part, pour augmenter la spécificité des cibles cellulaires et moléculaires. C'est dans cette optique que de nouveaux anticorps humains anti-CD3 (dont l'efficacité a été démontrée dans le traitement du diabète sucré de type 1) (Keymeulen et coll., 2005) sont actuellement en cours d'expérimentation.

Une autre entité pose le problème de l'indication du traitement : il s'agit du rejet infraclinique. On parle de rejet infraclinique lorsqu'une biopsie de dépistage réalisée chez un patient dont la fonction rénale ne s'est pas modifiée révèle l'existence de lésions histologiques attribuables à du rejet aigu (ou chronique d'ailleurs). Ceci a été décrit par Jean Crosnier au début des années 1970 mais a surtout été popularisé par D. Rush et coll. (1998) au milieu des années 1990. Ces auteurs ont montré la fréquence de ces lésions, leur caractère délétère sur le devenir clinique et histologique du greffon et enfin, l'influence bénéfique du traitement de tels rejets. À l'heure actuelle, sous l'effet des traitements immunosuppresseurs plus puissants dont nous disposons, leur fréquence a diminué mais l'indication de leur traitement n'est pas encore retenue formellement.

### Traitement du rejet chronique

Le traitement du rejet « chronique » pose avant tout le difficile problème de la définition du rejet chronique. Là encore, le terme est ancien et remonte à 1955 lorsque David Hume (Hume et coll., 1955) décrit dans un papier remarquable, le destin des premières transplantations rénales dont l'évolution était très rapidement (en quelques jours) un échec sauf justement, dans

un cas, où le patient avait gardé son rein quelques semaines, incitant l'auteur à parler de probable rejet chronique.

Pendant très longtemps cependant, la terminologie de rejet chronique a été synonyme de perte progressive de la fonction du greffon sans que la cause de cette perte soit évidente voire même recherchée par une biopsie rénale. Il faudra attendre le début des années 1990 pour que le rejet chronique commence à être élucidé. Une première phase consista à ne plus utiliser ce terme et à le remplacer par le terme de néphropathie chronique d'allogreffe (Solez et coll., 1993), terme qui soulignait le fait que la perte progressive de fonction du greffon n'était pas due uniquement à des lésions immunologiques de rejet chronique mais également à des lésions non immunologiques de néphrotoxicité des anticalcineurines ou de récurrence de la néphropathie initiale. Quelle que soit la cause de cette néphropathie chronique d'allogreffe, il existe dans tous les cas des lésions non spécifiques de fibrose interstitielle et d'atrophie tubulaire. À ces lésions non spécifiques, peuvent s'associer des lésions évocatrices d'une cause comme des lésions de rejet proprement dit, plutôt cellulaire ou plutôt humoral, des lésions de néphrotoxicité des anticalcineurines...

La terminologie s'est donc encore modifiée et le terme de néphropathie chronique d'allogreffe a disparu au profit d'une terminologie purement histologique, la fibrose interstitielle avec atrophie tubulaire (FI/AT) (Solez et coll., 2007).

Cette quête d'une meilleure connaissance de la physiopathologie de la perte progressive de fonction du greffon n'a donc pas qu'un intérêt conceptuel mais un intérêt beaucoup plus pratique à la fois diagnostique et thérapeutique.

Sur le plan diagnostique tout d'abord, il est fondamental de définir si les lésions responsables de la perte du greffon sont initiées par des facteurs immunologiques ou non immunologiques, car dans un cas il convient de renforcer l'immunosuppression ou de la modifier et dans l'autre, bien souvent, au contraire de la diminuer. Outre le diagnostic, cette définition plus précise ouvre la voie à la mise au point de biomarqueurs dont le rôle est de dépister les différents types de lésions voire de les anticiper afin de moduler l'immunosuppression de façon plus intelligente. Ces voies de recherche sont actuellement au premier plan, qu'il s'agisse du développement d'outils de dépistage immunologique, de dépistage de la fibrose ou de la fibrogenèse...

Le traitement du rejet chronique reste donc mal défini et est un domaine d'investigation important. Il pourrait reposer, dans l'avenir, sur des approches très différentes de celles utilisées actuellement, en utilisant des molécules anti-fibrosantes ou bloquant la prolifération vasculaire. Enfin, le meilleur contrôle de la réponse lymphocytaire B pourrait aussi limiter le développement du rejet chronique, souvent médié par des anticorps.

## Traitement des rejets en transplantation hépatique

En moyenne, la tolérance des greffons hépatiques est meilleure que celle des greffons rénaux, cardiaques et pulmonaires. Le rejet est plus rare et les besoins en immunosuppresseurs plus faibles. En pratique, on ne tient pas compte de la compatibilité HLA ni de la présence d'anticorps anti-HLA du receveur dirigés contre le donneur (*cross match*).

Par comparaison avec les autres organes solides transplantables, le rejet en transplantation hépatique a plusieurs caractéristiques. Le rejet hyperaigu à médiation humorale est presque inexistant. La survenue d'un épisode de rejet aigu précoce n'a pas d'influence délétère sur le fonctionnement ultérieur du greffon hépatique (Wiesner et coll., 1998). Il n'est donc pas souhaitable d'instaurer un traitement préventif « agressif » du rejet dans le but de réduire au maximum l'incidence du rejet aigu. Les inconvénients en termes de sur-immunosuppression seraient supérieurs aux bénéfices.

### Traitement général du rejet aigu

Le rejet aigu se manifeste principalement pendant le premier mois qui suit la transplantation. Ultérieurement, son incidence est nettement plus faible. Les rejets aigus tardifs sont le plus souvent la conséquence d'une diminution trop importante de l'immunosuppression (ou d'un arrêt du traitement). Le traitement de référence du rejet aigu précoce est représenté par des bolus de corticoïdes. L'utilisation systématique de sérum anti-lymphocytaire n'est pas recommandée car le rejet aigu cortico-résistant est désormais exceptionnel (O'Grady et coll., 2002). Il a été montré que l'augmentation transitoire des doses de tacrolimus peut constituer une alternative fiable pour traiter les épisodes de rejet aigu (Boillot et coll., 1998). Cette alternative n'a pas été clairement validée avec la ciclosporine. Le traitement avec l'anti-CD3 OKT3 est presque totalement abandonné.

### Traitement du rejet aigu chez les receveurs infectés par le VHC

Il est clairement établi que les bolus de corticoïdes (tout comme le sérum anti-lymphocytaire et l'OKT3) ont une influence délétère sur la récurrence de l'hépatite C en accélérant la progression de la fibrose. Dans cette population, l'objectif est donc d'appliquer une immunosuppression optimale au cours des suites précoces de la transplantation afin de réduire le risque de rejet aigu et d'éviter d'avoir recours à un traitement curatif par des bolus de corticoïdes. Cet objectif semble pouvoir être atteint par l'adjonction de mycophénolate mofétil aux anticalcineurines et aux corticoïdes comme traitement préventif du rejet (Wiesner et coll., 2005).

Les premières manifestations de la récurrence de l'hépatite C sur le greffon (anomalies des tests hépatiques) apparaissent habituellement dans les 3 premiers mois qui suivent la transplantation. En cas d'anomalies des tests hépatiques survenant durant cette période, il est donc recommandé de réaliser une biopsie hépatique pour différencier un épisode de rejet aigu de la récurrence de l'hépatite C.

### **Traitement du rejet chronique**

Le rejet chronique est rare en transplantation hépatique. Ses mécanismes ne sont pas clairement élucidés. Lorsque le rejet chronique est lié à une mauvaise observance ou à un arrêt de l'immunosuppression, la reprise du traitement immunosuppresseur peut conduire à une nette amélioration des anomalies cliniques et biologiques même si les lésions hépatiques constituées ne régressent pas complètement. Si un rejet chronique se développe chez un patient recevant de la ciclosporine, il est recommandé de remplacer la ciclosporine par du tacrolimus. Lorsqu'un rejet chronique se développe malgré une association de tacrolimus et de mycophénolate mofétil aux doses habituelles, et après des bolus de corticoïdes, il n'est pas certain que l'administration de sérum anti-lymphocytaire ou d'OKT3 ait un intérêt. La progression du rejet chronique aboutit en général à une cholangite irréversible et la retransplantation est la seule option. L'intérêt de l'adjonction d'inhibiteurs de m-TOR dans cette situation n'a pas été documenté.

### **Perspectives**

Le rejet hyperaigu à médiation humorale est exceptionnel en transplantation hépatique. Toutefois, il est possible qu'une réaction humorale « à bas bruit » dirigée précocement contre le greffon ait des conséquences significatives à long terme. Une meilleure identification de cette réaction avec une évaluation prospective pourrait avoir un intérêt. Des moyens thérapeutiques pouvant ralentir ou arrêter le processus du rejet chronique auraient un intérêt évident.

## **Spécificité du traitement des rejets en transplantation cardiaque**

La prévention des rejets en transplantation cardiaque s'inspire assez largement de la stratégie mise en place en transplantation rénale. Cette partie va insister sur les aspects qui opposent la transplantation cardiaque à la transplantation rénale.

## Association d'identités HLA

Contrairement à la transplantation rénale, la recherche de couples donneur/receveur HLA identiques n'est pas réalisée en greffe cardiaque. Il y a pourtant un bénéfice au long cours favorable au respect de l'identité (Ketheesan et coll., 1999 ; Registre ISHLT, 2007<sup>4</sup>). Le principal obstacle à sa réalisation est la faible disponibilité de greffons cardiaques et la tolérance courte à l'ischémie du greffon limitant la possibilité d'exportation de greffons à distance du centre de prélèvement (ce qu'impose la recherche d'un appariement HLA idéal). Les *cross match* prospectifs sont également rarement réalisés en greffe cardiaque du fait du laps de temps court séparant identification donneur/receveur, prélèvement, transport et greffe. La sécurité des transplantations cardiaques repose aujourd'hui sur la détection d'anticorps anti-HLA circulant et sur les programmes « Antigènes permis/antigènes interdits » de l'Agence de la biomédecine.

## Traitement d'induction

La plupart des centres de transplantation cardiaque en Europe ont avalisé l'utilisation d'un traitement d'induction couplant :

- bolus de corticoïdes (800 mg prednisolone au bloc opératoire) ;
- anticorps polyclonaux anti-lymphocytaires (thymoglobuline).

Cette stratégie avec anticorps polyclonaux a en effet fait la preuve de son efficacité anti-rejet, et elle permet d'envisager dans certains contextes une réduction rapide des doses de corticoïdes et/ou d'anticalcineurines. Son mécanisme d'action implique déplétion lymphocytaire T, présence d'anticorps anti-lymphocytes B et anti-cellules dendritiques, d'anticorps dirigés contre les molécules d'adhésion leucocytaires. Un effet spécifique favorisant l'émergence de lymphocytes T régulateurs (CD4+CD25<sup>high</sup>foxp3+) a également été mis en évidence (Lopez et coll., 2006).

L'induction par anticorps monoclonaux anti-CD25 est cependant possible et est préconisée pour les patients à haut risque infectieux (Mehra et coll., 2005).

## Prévention des rejets aigus

Les combinaisons de traitements immunosuppresseurs sont comparables aux transplantés de reins. L'association classique combine ciclosporine (ou tacrolimus), mycophénolate mofétil, et corticoïdes. La trithérapie à dose

---

4. <http://www.isHLT.org/registries/heartLungRegistry.asp>



réduite est souvent préférée à une bithérapie. Le registre de la Société internationale de transplantation cardiopulmonaire permet d'observer la progression du tacrolimus et la régression de l'azathioprine au cours des 5 dernières années (Taylor et coll., 2008). Porté par un effet démontré sur la maladie vasculaire du greffon (Viganò et coll., 2007), et par un potentiel antinéoplasique (Kauffman et coll., 2005), l'everolimus (un inhibiteur de la protéine mTOR) est proposé en association à la ciclosporine à dose réduite (Eisen et coll., 2003 ; Keogh et coll., 2004 ; Lehmkuhl et Hetzer, 2005 ; Valentine, 2005). Aujourd'hui, l'immunosuppression type n'est finalement plus aussi standardisée qu'elle l'a été. Le choix des différents immunosuppresseurs permet de personnaliser au mieux le traitement en prenant en compte les fragilités de chaque patient (risque rénal, néoplasique, infectieux, ou autre). Des essais cliniques randomisés sont en cours pour évaluer scientifiquement différentes combinaisons offertes. Parallèlement, il faut compléter l'analyse pharmacologique, les modalités de monitoring pharmacologique optimal (taux résiduel, aire sous la courbe...) de ces traitements et de leurs combinaisons restant en transplantation cardiaque essentiellement à définir.

### **Prévention/traitement du rejet chronique myocardique**

Le myocarde greffé va exprimer de manière démonstrative cette vasculopathie d'allogreffe décrite initialement par les néphrologues comme néphropathie chronique d'allogreffe. La maladie vasculaire du greffon cardiaque s'exprime par la constitution d'un épaissement de la paroi vasculaire des coronaires épocardiques. Cette atteinte diffuse (et non focale comme l'athérosclérose classique) conduit progressivement à une raréfaction du lit vasculaire, à une ischémie chronique du greffon que l'envahissement fibreux conduit à une dysfonction diastolique puis systolique. La solution, si elle peut être proposée, est alors la retransplantation. La maladie vasculaire du greffon est la principale cause de perte tardive des greffons et des patients (Taylor et coll., 2008). La physiopathogénie est discutée mais il est admis que ce phénomène est multifactoriel et comme en néphrologie la résultante de manifestations immunologiques (allogéniques) et non immunologiques (virales, liées à l'ischémie/reperfusion, à facteurs de risques classiques tels que dyslipidémie, HTA, diabète). La forme prise est d'ailleurs souvent une association d'une atteinte diffuse et d'authentiques lésions athéroscléreuses focales.

Le diagnostic est direct lorsqu'est mise en évidence l'hyperplasie intimale par échographie endocoronaire (Kobashigawa et coll., 2005), ou indirect lorsque c'est sa conséquence l'ischémie myocardique qui est dévoilée par l'échocardiographie sous dobutamine ou par la scintigraphie myocardique au thallium. La plupart des centres de transplantation ont recours à des angiographies coronaires périodiques (Tanaka et coll., 2006) permettant à la fois le diagnostic et le traitement de cette pathologie en recourant à l'angioplastie

ou à la mise en place d'endoprothèses coronaires (Kobashigawa, 2006). La place du coroscaner et de l'imagerie de résonance magnétique dans le diagnostic et la gestion de cette pathologie reste à définir.

La prise en charge médicamenteuse est limitée à l'angioplastie, aux anti-agrégants plaquettaires et aux statines (Kobashigawa et coll., 2005). Les nouveaux immunosuppresseurs (inhibiteurs de la protéine mTOR, sirolimus et everolimus) sont théoriquement susceptibles de s'opposer à l'évolution du myocarde greffé vers une vasculopathie (Patel et Kobashigawa, 2006 ; Raichlin et coll., 2007a et b). Les essais cliniques en cours pourraient conduire à une modification majeure des modalités thérapeutiques.

## Prévention et traitement des rejets en transplantation pulmonaire

En transplantation pulmonaire, le rejet aigu cellulaire est défini par l'existence d'infiltrats mononucléés périvasculaires sur les biopsies transbronchiques (Yousem et coll., 1996). L'intensité de ces infiltrats ainsi que leur extension aux structures adjacentes permettent de définir plusieurs grades histologiques de rejet aigu. Récemment, le rejet aigu humoral a aussi été reconnu comme une cause possible de perte du greffon. Il se caractérise par des lésions microvasculaires entraînant la formation de microthromboses, d'hémorragies interstitielles et alvéolaires, la destruction capillaire, et finalement l'infarctus tissulaire. Sa mise en évidence se heurte à des problèmes techniques spécifiques (marquage C4d), et son individualisation est moins tranchée qu'en transplantation rénale notamment.

Le risque de développer un rejet aigu est maximal dans les premiers mois suivant la transplantation pulmonaire. D'après les données du registre international de transplantation pulmonaire, 30 à 50 % des greffés pulmonaires sont traités pour un rejet aigu dans la première année suivant la transplantation. Plusieurs facteurs de risque de développer un rejet aigu ont été identifiés : le non-appariement des antigènes HLA en particulier DR et B, la multiparité, la greffe d'un organe féminin chez un receveur masculin, les infections virales notamment à CMV (cytomégalovirus), le reflux gastro-œsophagien, certaines prédispositions génétiques et la présence d'alloanticorps spécifiques du donneur.

La prévention du rejet aigu est essentiellement basée sur l'immunosuppression. La thérapie d'induction est utilisée par la moitié environ des équipes de transplantation pulmonaire, et son intérêt reste à démontrer dans cette indication. L'immunosuppression de maintenance comprend 3 médicaments de classe différente : un anticalcineurine (tacrolimus ou ciclosporine), un inhibiteur du cycle cellulaire (azathioprine ou mycophénolate mofétil) et des stéroïdes. Il n'y a pas d'arguments expérimentaux forts permettant de

recommander un produit plutôt qu'un autre de ces 3 classes thérapeutiques pour la prévention du rejet aigu.

Le rejet aigu vasculaire est traité par des stéroïdes intraveineux à hautes doses suivies de doses orales décroissantes. En cas d'échec, le sérum anti-lymphocytaire est utilisé. Le rejet humoral est traité par stéroïdes et plasmaphérèse et/ou immunoglobulines polyvalentes.

Le rejet chronique se traduit par des lésions de bronchiolite oblitérante. En pratique clinique, le syndrome de bronchiolite oblitérante (BOS) qui a une définition fonctionnelle est utilisé, la mise en évidence histologique des lésions par les biopsies transbronchiques étant peu sensible. De très nombreuses interventions ont été testées pour tenter de modifier le cours évolutif de la BOS. Des résultats encourageants ont été enregistrés avec la modification du régime ou des doses d'immunosuppresseurs, l'administration d'un macrolide ou encore l'irradiation lymphoïde totale. Réalisées sur des petits échantillons de patients, sans groupe témoin, ces études demandent cependant à être confirmées (Whelan et Hertz, 2005).

**En conclusion**, quel que soit l'organe considéré, le traitement préventif du rejet aigu en particulier cellulaire est de plus en plus efficace et repose sur une association de 3 immunosuppresseurs avec ou sans traitement d'induction. Le traitement curatif du rejet aigu repose sur les stéroïdes en cas de forme cellulaire et sur une association échanges plasmatiques-anticorps anti-CD20 et IV-Ig polyvalentes en cas de forme humorale. Le traitement du rejet chronique est moins bien codifié car il importe avant tout de porter un diagnostic précis du type de rejet chronique. La place des inhibiteurs de mTOR est encore assez mal codifiée sauf peut-être en transplantation cardiaque. Les progrès nécessaires concernent la mise à disposition de nouveaux traitements plus spécifiques et mieux tolérés du rejet aigu cellulaire, la standardisation du traitement du rejet humoral (études en cours) et la mise à disposition de molécules réellement efficaces sur les plasmocytes et les lymphocytes B mémoires ainsi que sur la phase effectrice dépendant du complément. Concernant le rejet chronique, il convient de développer et de valider des biomarqueurs quelle qu'en soit la nature qui permettront d'affiner cette classification histologique. Il importe enfin de définir des biomarqueurs de fibrose ou de fibrogenèse, de « rejet chronique » voire de néphrotoxicité ou d'infection virale. Des outils existent et des essais sont en cours.

Il semble indispensable de s'orienter vers un diagnostic précoce et non invasif du rejet aigu et chronique en ayant recours à des biomarqueurs invasifs dans une première phase (biopsie) puis non invasifs (urines, sang).

## BIBLIOGRAPHIE

BOILLOT O, VIALE JP, GRATADOUR P, MEEUS P, SOURATY P, et coll. Reversal of early acute rejection with increased doses of tacrolimus in liver transplantation: a pilot study. *Transplantation* 1998, **66** : 1182-1185

COSIMI AB, COLVIN RB, BURTON RC, RUBIN RH, GOLDSTEIN G, et coll. Use of monoclonal antibodies to T-cell subsets for immunologic monitoring and treatment in recipients of renal allografts. *New Engl J Med* 1981, **305** : 308-314

EISEN HJ, TUZCU EM, DORENT R, KOBASHIGAWA J, MANCINI D, et coll. Everolimus for the prevention of allograft rejection and vasculopathy in cardiac-transplant recipients. *N Engl J Med* 2003, **349** : 847-858

FEUCHT HE, SCHNEEBERGER H, HILLEBRAND G, BURKHARDT K, WEISS M, et coll. Capillary deposition of C4d complement fragment and early renal graft loss. *Kidney Int* 1993, **43** : 1333-1338

HAMBURGER J, VAYSSE J, CROSNIER J, AUVERT J, LALANNE CM, et coll. Renal homo-transplantation in man after radiation of the recipient. Experience with 6 patients since 1959. *Am J Med* 1962, **32** : 854-871

HUME DM, MERRILL JP, MILLER BF, THORN GW. Experiences with renal homotransplantation in the human: report of nine cases. *J Clin Invest* 1955, **34** : 327-382

KAUFFMAN HM, CHERIKH WS, CHENG Y, HANTO DW, KAHAN BD. Maintenance immunosuppression with target-of-rapamycin inhibitors is associated with a reduced incidence of de novo malignancies. *Transplantation* 2005, **80** : 883-889

KEOGH A, RICHARDSON M, RUYGROK P, SPRATT P, GALBRAITH A, et coll. Sirolimus in de novo heart transplant recipients reduces acute rejection and prevents coronary artery disease at 2 years: a randomized clinical trial. *Circulation* 2004, **110** : 2694-2700. Epub 2004 Jul 19

KETHEESAN N, TAY GK, WITT CS, CHRISTIANSEN FT, TAYLOR RR, DAWKINS RL. The significance of HLA matching in cardiac transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1999, **18** : 226-230

KEYMEULEN B, VANDEMEULEBROUCKE E, ZIEGLER AG, MATHIEU C, KAUFMAN L, et coll. Insulin needs after CD3-antibody therapy in new-onset type 1 diabetes. *New Engl J Med* 2005, **352** : 2598-2608

KOBASHIGAWA JA. Cardiac allograft vasculopathy in heart transplant patients: pathologic and clinical aspects for angioplasty/stenting. *J Am Coll Cardiol* 2006, **48** : 453-461

KOBASHIGAWA JA, TOBIS JM, STARLING RC, TUZCU EM, SMITH AL, et coll. Multi-center intravascular ultrasound validation study among heart transplant recipients: outcomes after five years. *J Am Coll Cardiol* 2005, **45** : 1532-1537

LEHMKUHL H, HETZER R. Clinical experience with Certican (everolimus) in de novo heart transplant patients at the Deutsches Herzzentrum Berlin. *J Heart Lung Transplant* 2005, (4 Suppl) : S201-S205; discussion S210-1

LOPEZ M, CLARKSON MR, ALBIN M, SAYEGH MH, NAJAFIAN N. A novel mechanism of action for anti-thymocyte globulin: induction of CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells. *J Am Soc Nephrol* 2006, **10** : 2844-2853. Epub 2006 Aug 16

MEHRA MR, ZUCKER MJ, WAGONER L, MICHLER R, BOEHMER J, et coll. A multicenter, prospective, randomized, double-blind trial of basiliximab in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2005, **24** : 1297-1304

O'GRADY JG, BURROUGHS A, HARDY P, ELBOURNE D, TRUESDALE A. Tacrolimus versus microemulsified ciclosporin in liver transplantation: the TMC randomised controlled trial. *Lancet* 2002, **360** : 1119-1125

PATEL JK, KOBASHIGAWA JA. Everolimus: an immunosuppressive agent in transplantation. *Expert Opin Pharmacother* 2006, **7** : 1347-1355

RACUSEN LC, COLVIN RB, SOLEZ K, MIHATSCH MJ, HALLORAN PF, et coll. Antibody-mediated rejection criteria- an addition to the Banff 97 classification of renal allograft rejection. *Am J Transplant* 2003, **3** : 708-714

RAICHLIN E, KHALPEY Z, KREMERS W, FRANTZ RP, RODEHEFFER RJ, et coll. Replacement of calcineurin-inhibitors with sirolimus as primary immunosuppression in stable cardiac transplant recipients. *Transplantation* 2007a, **84** : 467-474

RAICHLIN E, BAE JH, KHALPEY Z, EDWARDS BS, KREMERS WK, et coll. Conversion to sirolimus as primary immunosuppression attenuates the progression of allograft vasculopathy after cardiac transplantation. *Circulation* 2007b, **116** : 2726-2733. Epub 2007 Nov 19

RUSH D, NICKERSON P, GOUGH J, MCKENNA R, GRIMMP, et coll. Beneficial effects of treatment of early subclinical rejection: a randomized study. *J Am Soc Nephrol* 1998, **9** : 2129-2134

SOLEZ K, AXELSEN RA, BENEDIKTSSON H, BURDICK JF, COGEN AT, et coll. International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: the Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int* 1993, **44** : 411-422

SOLEZ K, COLVIN RB, RACUSEN LC, SIS B, HALLORAN PF, et coll. Banff '05 meeting report: differential diagnosis of chronic allograft injury and elimination of chronic allograft nephropathy ("CAN"). *Am J Transplant* 2007, **7** : 518-526

SOLEZ K, COLVIN RB, RACUSEN LC, HAAS M, SIS B, et coll. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant* 2008, **8** : 753-760. Epub 2008 Feb 19

TANAKA K, LI H, CURRAN P, TAKANO Y, ARBIT B, et coll. Usefulness and safety of percutaneous coronary interventions for cardiac transplant vasculopathy. *Am J Cardiol* 2006, **97** : 1192-1197

TAYLOR D, EDWARDS L, AURORA P, CHRISTIE JD, DOBBELS F, et coll. Registry of the international society for heart and lung transplantation: twenty-fifth official adult heart transplant report-2008. *J Heart Lung Transplant* 2008, **27** : 943-956

VALENTINE H. Prevention of cardiac allograft vasculopathy with Certican (everolimus): The Stanford University experience within the Certican phase III clinical trial. *J Heart Lung Transplant* 2005, **24** : S191-S195

VENETZ JP, PASCUAL M. New treatments for acute humoral rejection of kidney allografts. *Expert Opin Investig Drugs* 2007, **16** : 625-633

VIGANÒ M, TUZCU M, BENZA R, BOISSONNAT P, HAVERICH A, et coll. Prevention of acute rejection and allograft vasculopathy by everolimus in cardiac transplants recipients: a 24-month analysis. *J Heart Lung Transplant* 2007, **26** : 584-592. Epub 2007 Apr 27

WHELAN TPM, HERTZ MI. Allograft rejection after lung transplantation. *Clin Chest Med* 2005, **26** : 599-612

WIESNER RH, DEMETRIS AJ, BELLE SH, SEABERG EC, LAKE JR, et coll. Acute hepatic allograft rejection: incidence, risk factors, and impact on outcome. *Hepatology* 1998, **28** : 638-645

WIESNER RH, SHORR JS, STEFFEN BJ, CHU AH, GORDON RD, LAKE JR. Mycophenolate mofetil combination therapy improves long-term outcomes after liver transplantation in patients with and without hepatitis C. *Liver Transpl* 2005, **11** : 750-759

WOODRUFF MFA, REID B, JAMES K. The effects of antilymphocytic antibody and antibody fragments on human lymphocyte in vitro. *Nature* 1967, **215** : 591-594

YOUSEM SA, BERRY GJ, CAGLE PT, CHAMBERLAIN D, HUSAIN AN, et coll. Revision of the 1990 working formulation for the classification of pulmonary allograft rejection: Lung Rejection Study Group. *J Heart Lung Transplant* 1996, **15** : 1-15



## 5

## Optimisation des traitements immunosuppresseurs

L'immunosuppression repose à l'heure actuelle dans la majorité des cas, sur une induction<sup>5</sup> initiale par des agents biologiques anti-lymphocyte, mono- ou polyclonaux, associée à une trithérapie stéroïdes - anticalcineurines - inhibiteurs de l'IMPDH (inosine monophosphate déshydrogénase). Ceci est particulièrement bien illustré d'une part, par les données américaines concernant l'évolution dans le temps du type de traitement reçu par les patients transplantés rénaux à la sortie de leur première hospitalisation (Port et coll., 2006) et d'autre part, par l'étude Symphonie, publiée récemment dans le *New England Journal of Medicine* qui démontre que le traitement qui comporte à l'heure actuelle, le meilleur rapport efficacité/tolérance est une quadrithérapie séquentielle : anticorps anti-récepteurs de l'interleukine 2, stéroïdes, tacrolimus, mycophénolate mofétil (Ekberg et coll., 2007).

La recherche d'une optimisation de l'immunosuppression repose donc à l'heure actuelle sur l'éviction des drogues les moins bien tolérées (anticalcineurine et stéroïdes), sur l'utilisation optimale des drogues dont nous disposons (adaptation pharmacologique), sur l'individualisation du traitement grâce à la pharmacogénétique notamment, sur la recherche de nouvelles molécules immunosuppressives plus spécifiques et mieux tolérées (voir chapitre « nouveaux immunosuppresseurs ») et enfin sur les stratégies d'induction ou de dépistage d'une tolérance.

Les anticalcineurines (ciclosporine, tacrolimus) représentent encore à l'heure actuelle la clé de voûte du traitement immunosuppresseur mais leurs effets secondaires sont nombreux (hypertension artérielle, diabète sucré, néphrotoxicité, effets cosmétiques...). La néphrotoxicité pose en particulier un problème redoutable quel que soit l'organe transplanté. À titre d'exemple, environ 10 % des patients transplantés d'un organe autre que le rein, ont une insuffisance rénale chronique terminale 10 ans après la transplantation.

---

5. En pratique, le traitement d'induction correspond à l'utilisation à la phase initiale de la transplantation, d'anticorps poly- ou monoclonaux, dirigés contre certains antigènes lymphocytaires.



## Stratégies de réduction de la toxicité des anticalcineurines

Dans le but d'optimiser le traitement immunosuppresseur, il a été capital, au cours de ces dernières années, de réfléchir aux différentes options pour diminuer la toxicité des anticalcineurines tout en ne diminuant pas leur efficacité qui reste pour l'instant inégalée. Ces différentes options sont les suivantes :

- les stratégies de minimisation des doses d'anticalcineurines, à distance de la transplantation, sont accompagnées soit du maintien inchangé du reste du traitement immunosuppresseur, soit de la majoration de l'un des deux autres immunosuppresseurs (stéroïdes ou inhibiteur de l'IMPDH), soit du remplacement de l'un des deux autres immunosuppresseurs par un nouvel immunosuppresseur non néphrotoxique, soit enfin, de l'ajout d'un nouvel immunosuppresseur non néphrotoxique ;
- les stratégies de minimisation des anticalcineurines reposent sur la modification de leur posologie grâce au suivi thérapeutique pharmacologique ;
- les stratégies de conversion des anticalcineurines pour un immunosuppresseur non néphrotoxique, conversion plus ou moins précoce après la transplantation et s'adressant à des patients considérés comme stables ou au contraire, présentant une détérioration de la fonction de leur greffon mise sur le compte de la néphrotoxicité des anticalcineurines ;
- les stratégies de non introduction d'emblée des anticalcineurines après la transplantation en utilisant à leur place des immunosuppresseurs non néphrotoxiques ;
- les stratégies d'induction de tolérance visant à ne plus utiliser d'immunosuppresseurs une fois passée la phase initiale de la transplantation.

### Minimisation des doses d'anticalcineurines

Les stratégies de minimisation consistent à diminuer, à distance de la greffe, la dose d'anticalcineurines reçue par le patient ou à modifier à la baisse l'exposition à ces médicaments en diminuant soit leur taux résiduel, soit l'aire sous la courbe (courbe de la concentration sérique d'immunosuppresseur en fonction du temps). Cette minimisation peut être effectuée sans autre modification du traitement immunosuppresseur avec un gain en termes d'amélioration de la fonction rénale (Pascual et coll., 2003). Elle peut aussi être effectuée en modifiant le reste du traitement immunosuppresseur, par augmentation de la dose de mycophénolate mofétil (inhibiteur de l'IMPDH) ou par introduction de ce dernier. Les quelques études sur le sujet ont montré que cette approche était sûre en ce qui concerne l'incidence de rejet aigu après la diminution de l'exposition aux anticalcineurines mais que les conclusions en termes d'amélioration de la fonction rénale étaient mitigées (Pascual et coll., 2003).

## Conversion d'immunosuppresseurs

Les stratégies de conversion consistent à diminuer progressivement les doses d'anticalcineurines jusqu'à l'arrêt en remplaçant cette classe d'immunosuppresseurs par un immunosuppresseur non néphrotoxique. Cette stratégie a été appliquée soit aux patients considérés comme en situation stable (c'est-à-dire avec une fonction rénale stable) à distance de la transplantation (conversion tardive), soit aux patients ayant une dégradation de leur fonction rénale liée à la néphrotoxicité supposée ou prouvée des anticalcineurines, dans les mois suivant la transplantation (conversion précoce).

### *Conversion tardive*

Chez les patients en situation stable, cette stratégie a été utilisée tout d'abord avec le mycophénolate mofétil. L'essai le plus important a été publié par Abramowicz et coll. La principale conclusion de cet essai multicentrique a été une augmentation de l'incidence de rejet aigu chez les patients interrompant la ciclosporine par rapport à ceux qui poursuivaient le même traitement (Abramowicz et coll., 2002). Fait intéressant, à long terme, la survie des greffons dans le groupe avec interruption de la ciclosporine était inférieure à celle des patients du groupe sans interruption (Abramowicz et coll., 2005). L'amélioration de la fonction rénale observée dans le groupe des patients avec interruption n'était pas compensée par les conséquences du sur-risque de rejet induit par cette interruption.

Le sirolimus, inhibiteur de mTOR, non néphrotoxique, a été ensuite étudié de façon similaire dans le cadre d'une conversion tardive. Les résultats ne sont pas encore publiés, mais ils mettent en évidence une très faible incidence de rejet aigu à l'arrêt de la ciclosporine et également une faible amélioration de la fonction rénale. Le bénéfice principal de l'arrêt des anticalcineurines est une diminution significative et précoce de l'incidence des cancers (étude non encore publiée).

### *Conversion précoce*

Une étude un peu différente a été effectuée avec le sirolimus. Dans l'étude princeps (Johnson et coll., 2001), après avoir reçu pendant 3 mois une association ciclosporine-sirolimus, les patients étaient randomisés en deux groupes avec la poursuite de l'association dans un groupe et un arrêt de la ciclosporine dans l'autre. Malgré une augmentation de l'incidence du rejet aigu à l'arrêt de la ciclosporine, la fonction rénale des patients du groupe avec interruption s'améliorait avec le temps par rapport au groupe sans interruption (Legendre et coll., 2007). Il faut cependant remarquer que l'association du sirolimus à la ciclosporine majore la néphrotoxicité de cette dernière, propriété qui n'était pas connue au moment du *design* de cette étude. Une méta-analyse récente a confirmé que l'arrêt précoce de la ciclosporine et son remplacement par le sirolimus entraîne certes une amélioration de la fonction

du greffon mais au prix d'une augmentation de l'incidence de rejet aigu (Mulay et coll., 2005).

Enfin, dans le cadre des études de conversion chez des patients présentant une dysfonction chronique du transplant, c'est le mycophénolate mofétil qui a été utilisé en premier. Les patients dont la courbe de suivi de la fonction rénale au cours du temps présentait une pente négative, étaient inclus dans l'essai et randomisés en deux groupes : maintien du traitement à base de ciclosporine dans le premier et remplacement progressif de la ciclosporine par le mycophénolate mofétil dans l'autre (Dudley et coll., 2005). Cette étude a clairement montré que la fonction rénale se stabilisait ou s'améliorait significativement plus souvent en cas d'arrêt de la ciclosporine. En revanche, il n'était pas évident de préciser si cette amélioration était due à la disparition du potentiel néphrotoxique de la ciclosporine, à l'effet propre du mycophénolate mofétil ou à la conjonction des deux phénomènes. C'est le mérite de l'étude de Suwelack et coll. (2004) d'avoir montré que l'effet principal était l'arrêt de la ciclosporine, ce qui confirme a posteriori toute la difficulté à préciser chez un patient donné le rôle des facteurs immunologiques et non immunologiques à l'origine de la dégradation de la fonction rénale (revue dans Ciancio et coll., 2005). Le même type d'étude a été effectué avec le sirolimus et des résultats contrastés.

### **Non introduction d'emblée des anticalcineurines**

Les stratégies de non introduction d'emblée des anticalcineurines ont concerné des patients à faible risque immunologique (ayant a priori un risque diminué de rejet aigu) et à fort risque de néphrotoxicité des anticalcineurines (patients transplantés avec un rein marginal ou patients âgés).

Les premières études ont utilisé le mycophénolate mofétil (souvent à doses élevées) à la place de la ciclosporine en association avec des stéroïdes et une induction (Tran et coll., 2000 ; Vincenti et coll., 2001 ; Grinyo et coll., 2003 ; Arbogast et coll., 2005). Les conclusions de ces études à faibles effectifs, pas toutes randomisées, sont les suivantes : l'incidence de rejet aigu est élevée et se situe entre 30 et 50 % et le pourcentage de patients effectivement sans ciclosporine à un an est d'environ 50 % ce qui est loin de l'objectif souhaité. Ce protocole n'a donc pas été retenu.

Les inhibiteurs de mTOR et en particulier le sirolimus ont été testés dans cette indication. Les études pilotes (Groth et coll., 1999 ; Kreis et coll., 2000) indiquaient que cette stratégie était acceptable même si l'incidence des rejets aigus semblait supérieure à celle observée dans le groupe des patients traités avec la ciclosporine. Une méta-analyse récente (incluant 8 essais et plus de 1 000 patients) conclut en effet que le recours au sirolimus à la place de la ciclosporine se traduit par, certes une incidence comparable de rejet aigu, mais une amélioration de la fonction rénale et une moins bonne

tolérance avec une augmentation des effets secondaires suivants : anémie, leucopénie, thrombopénie, dyslipidémie, lymphocèles... (Webster et coll., 2006). L'étude plus récente de Larson et coll. (2006) a jeté le trouble car la différence entre les deux groupes sirolimus ou tacrolimus ne concernait ni la survie des patients et des greffons, ni l'incidence de rejet aigu, ni la fonction du greffon mais plutôt le profil de tolérance (avec un arrêt du sirolimus plus fréquent que celui du tacrolimus) et une moindre dégradation histologique dans le groupe recevant du sirolimus. Deux études non encore publiées ont été interrompues en raison d'une augmentation significative de l'incidence du rejet aigu dans les groupes recevant du sirolimus à la place d'un anticalcineurine. Il semble donc qu'à l'heure actuelle, la place des inhibiteurs de mTOR utilisés d'emblée après la transplantation soit très restreinte.

Enfin, un troisième candidat au remplacement des anticalcineurines est le belatacept, une molécule ayant une affinité augmentée par rapport au CTLA4-Ig vis-à-vis des récepteurs CD80 et CD86, dans l'espoir de bloquer le signal de co-stimulation. Ce traitement qui s'administre par voie intraveineuse, de façon intermittente, a été comparé à la ciclosporine dans une étude de phase II (Vincenti et coll., 2005). L'incidence du rejet aigu n'était pas inférieure à celle observée dans le groupe ciclosporine. En revanche, la fonction rénale et l'analyse histologique des greffons étaient améliorées par rapport au groupe ciclosporine. Cette molécule est donc porteuse d'avenir et elle est actuellement testée chez des patients à faible risque immunologique, chez les patients à haut risque de reprise retardée de fonction (pour éviter la néphrotoxicité initiale des anticalcineurines) ainsi qu'en conversion tardive chez des patients stables.

## Stratégies de réduction de la toxicité des stéroïdes

Les effets secondaires des stéroïdes sont nombreux et bien connus depuis longtemps (diabète sucré, aspect cushingoïde, fragilité cutanée, ostéoporose, ostéonécrose, hypertension artérielle...). En transplantation d'organes, de nombreuses équipes tentent donc de diminuer cette toxicité grâce à différentes stratégies (Meier-Kriesche et coll., 2008) : diminution puis interruption des stéroïdes à distance de la transplantation (arrêt tardif), interruption précoce quelques jours après la transplantation (arrêt précoce) voire non introduction.

La grande majorité des études publiées sur le sujet montrent certes un bénéfice en termes de moindre incidence des complications telles que les dyslipidémies, l'hypertension artérielle mais aussi une sur-incidence d'épisodes de rejet aigu qui ne s'accompagne pas toujours d'une influence délétère sur la survie du greffon à moyen terme.

Il faut toutefois remarquer que la plupart de ces études souffrent souvent des mêmes biais : études monocentriques, avec de faibles effectifs, une durée de suivi moyen trop court mais surtout une absence d'études en double aveugle qui biaise probablement la prise en charge des patients du groupe sans stéroïdes avec la réalisation plus facile et donc plus fréquente de biopsies rénales. La seule étude réalisée en double aveugle démontre qu'avec un suivi de 4 ans, l'incidence du rejet aigu mais également du rejet chronique augmente dans le groupe sans stéroïdes (Woodle et coll., 2007).

Il importe donc de définir précisément quels sont les groupes ou sous-groupes de patients qui peuvent bénéficier de ces stratégies de réduction ou de non introduction (rein-pancréas, faible risque immunologique, patients âgés, patients africains américains ou européens...), quel doit être le traitement immunosuppresseur associé et en particulier quel doit être le traitement d'induction et sa durée, le choix de l'inhibiteur des anticalcineurines, le rôle de la spécificité d'organes...

## Stratégies d'induction de tolérance

Les stratégies d'induction de tolérance ont pour objet d'obtenir l'interruption de l'immunosuppression après transplantation en raison d'une tolérance spécifique du receveur vis-à-vis du donneur. La diminution de la toxicité des différentes drogues est évidemment un bénéfice considérable en plus de la disparition des manifestations de sur-immunosuppression que sont les infections et les cancers. On peut rapprocher de cette stratégie d'induction de tolérance, la stratégie de dépistage de tolérance, qui consiste à dépister parmi les patients transplantés, quels sont ceux qui sont en fait tolérants et chez qui le traitement immunosuppresseur pourrait être diminué puis interrompu.

Jusqu'à un passé très récent, quasiment toutes les tentatives d'induction de tolérance chez le receveur de greffe se sont soldées par des échecs (à l'exception de quelques cas d'irradiation lymphoïde totale du receveur ; Strober et coll., 1989). Les techniques utilisées ont consisté à induire une déplétion lymphocytaire T massive et transitoire (anti-thymoglobuline, anti-CD52 ou alemtuzumab, anti-CD2), à utiliser une irradiation lymphoïde, à infuser des cellules souches hématopoïétiques du donneur et à administrer ensuite une immunosuppression avec un ou deux immunosuppresseurs à doses progressivement diminuées jusqu'à l'interruption ou la tentative d'interruption (Swanson et coll., 2002 ; Knechtle et coll., 2003 ; Starzl et coll., 2003).

En 2008, plusieurs cas ont été rapportés qui s'apparentent à une véritable induction de tolérance (Alexander et coll., 2008 ; Kawai et coll., 2008 ; Scandling et coll., 2008) et qui suscitent, bien entendu beaucoup d'espoir.

Les résultats sont décrits dans le chapitre sur la tolérance.

Il peut également être intéressant de dépister parmi tous les patients transplantés, ceux qui sont tolérants et à qui l'immunosuppression pourrait être diminuée voire interrompue. La recherche de biomarqueurs de tolérance ou d'alloréactivité (Anglicheau et Suthanthiran, 2008) est très active à l'heure actuelle et il est particulièrement important de définir dans quelles conditions le traitement immunosuppresseur pourra être modulé (Brouard et coll., 2007). Les rares patients qui ont interrompu volontairement leur traitement immunosuppresseur sont naturellement l'objet d'investigations particulières (Roussey-Kesler et coll., 2006 ; Ashton-Chess et coll., 2007).

## **Adaptation des traitements immunosuppresseurs et pharmacologie**

Les ressources de la pharmacologie ont été utilisées pour adapter au mieux les traitements immunosuppresseurs avec le double objectif de limiter leur toxicité et d'en individualiser la posologie. Ont ainsi été utilisées des données de pharmacocinétique, de pharmacodynamie et de pharmacogénétique. En effet, les immunosuppresseurs actuels et en particulier, les anticalcineurines, sont des médicaments à spectre thérapeutique étroit, ce qui signifie que la limite entre efficacité et toxicité est étroite. De plus, il existe une importante variabilité intra-individuelle et inter-individuelle. L'application de la pharmacologie à l'adaptation et à la surveillance du traitement immunosuppresseur s'appelle le suivi thérapeutique pharmacologique. Il a pour objet de préciser pour un patient donné quelle est la posologie la plus adaptée pour être dans la zone thérapeutique et si possible, de prédire pour un patient donné la dose la plus adéquate.

### **Pharmacocinétique**

En ce qui concerne les données pharmacocinétiques, outre l'utilisation des concentrations résiduelles des anticalcineurines ou de leurs concentrations deux heures après la prise de ciclosporine, l'évaluation de l'aire sous la courbe comme indicateur de l'exposition aux immunosuppresseurs a été utilisée en particulier dans le cas du mycophénolate mofétil. En effet, l'aire sous la courbe de cette drogue a pu être non pas calculée à partir d'une courbe complète mais prédite par une estimation bayésienne à partir de quelques points de pharmacocinétique (concept de mini-aire sous la courbe). Deux études multicentriques, une française (Le Meur et coll., 2007) et l'autre européenne (van Gelder et coll., 2008) ont évalué l'impact d'une adaptation de la posologie de mycophénolate mofétil en fonction de l'aire sous la courbe à différents temps après la transplantation. Fait intéressant, l'étude

française dans laquelle la majorité des patients a effectivement été traitée avec une adaptation de la dose, conclut à un bénéfice en termes de diminution de l'incidence de rejet aigu, alors que l'étude européenne ne met en évidence aucune différence entre les deux groupes (avec et sans adaptation). Il faut remarquer que dans cette dernière étude, la majorité des posologies de mycophénolate mofétil n'a pas été adaptée à l'aire sous la courbe. Ces deux études soulignent la difficulté de mener à bien ce type de projet ambitieux qui requiert de la part des participants une stricte adhésion au protocole faute de quoi l'hypothèse initiale ne peut être testée correctement.

### Pharmacogénétique

Les données apportées par la pharmacogénétique sont probablement plus novatrices même si leur application en transplantation est encore balbutiante. La pharmacogénétique se propose d'étudier l'influence de la variabilité génétique au niveau de certains gènes du métabolisme sur l'action des immunosuppresseurs. L'histoire a débuté avec l'azathioprine qui, lorsqu'il est administré à certains patients, induit une aplasie médullaire liée à l'absence à l'état homozygote d'une enzyme responsable de la transformation de la 6-mercaptopurine en composants inactifs, la thio-purine-méthyl-transférase ou TPMT. Les variations d'activité de cette enzyme sont sous la dépendance d'un polymorphisme génétique avec une absence d'activité associée à 2 mutations dans les exons 7 et 10 (revue dans Thervet et coll., 2008). La corrélation entre activité enzymatique et génotype est telle qu'il est désormais recommandé par la *Food and Drug Administration* de déterminer le génotype de la TPMT avant de débiter un traitement par l'azathioprine pour éviter un accident de toxicité médullaire.

L'adaptation individuelle peut également concerner l'efficacité et non plus la toxicité des immunosuppresseurs. C'est le cas du tacrolimus et du polymorphisme du gène codant le cytochrome P450 3A (CYP3A), enzyme impliquée dans le métabolisme du tacrolimus. En présence de certains allèles, la dose de tacrolimus nécessaire à l'obtention d'un taux compris dans la fenêtre thérapeutique est plus ou moins importante. Par exemple, les patients CYP3A5\*3/\*3 nécessitent des doses de tacrolimus moins élevées pour obtenir l'effet souhaité (Thervet et coll., 2005). Ceci s'est traduit dans les différentes études publiées par une obtention plus rapide de taux efficace mais sans incidence sur la fréquence de rejet aigu. Le tacrolimus est également un substrat de la P-glycoprotéine qui dépend du polymorphisme du gène *MDR1*. Là encore, la dose nécessaire pour obtenir la concentration souhaitée est variable en fonction des différents allèles mutés. Ces interactions sont moins nettes en ce qui concerne l'adaptation de la dose de ciclosporine mais existent dans le cas du sirolimus et du mycophénolate mofétil (Thervet et coll., 2005).

Il reste désormais à définir le rôle exact de ces interactions en pratique clinique. Une étude prospective a évalué l'impact du polymorphisme du CYP3A5 sur l'adaptation de la posologie initiale de tacrolimus (Thervet et coll., 2005). Les patients ont été génotypés au moment de la transplantation et randomisés en deux groupes : un groupe sans adaptation de la posologie de tacrolimus (autre que l'adaptation habituelle au poids) et un groupe où la posologie initiale était fonction du résultat du génotype. La différence était jugée sur la première concentration résiduelle de tacrolimus mesurée 3 jours après la première prise du médicament. Même si les données sont encore préliminaires, il s'avère que l'adaptation à la cible souhaitée est significativement plus fréquente si l'on tient compte du génotype que si l'on n'en tient pas compte. Il reste désormais à déterminer si cette meilleure adaptation initiale a des conséquences cliniques en termes de rapidité de reprise de fonction et de prévention précoce du rejet aigu.

Ces nouvelles technologies devraient permettre une meilleure individualisation des traitements immunosuppresseurs non seulement pour en prévoir la toxicité et l'efficacité mais aussi pour obtenir une meilleure adaptation finale.

**En conclusion**, les progrès en termes d'optimisation des traitements immunosuppresseurs sont réels mais nous manquons encore, et c'est l'objet de nombreuses recherches, de moyens fiables et applicables pour mesurer l'état d'immunosuppression global ou spécifique induit par ces médicaments. Cette mesure permettrait à l'évidence une réelle individualisation du traitement.

## BIBLIOGRAPHIE

ABRAMOWICZ D, MANAS D, LAO M, VANRENTERGHEM Y, DEL CASTILLO D, et coll. Cyclosporine withdrawal from a mycophenolate mofetil-containing immunosuppressive regimen in stable kidney transplant recipients: a randomized, controlled study. *Transplantation* 2002, **74** : 1725-1734

ABRAMOWICZ D, DEL CARMEN RIAL M, VITKO S, DEL CASTILLO D, MANAS D, et coll. Cyclosporine withdrawal from a mycophenolate mofetil-containing immunosuppressive regimen : results of a five-year prospective, randomized study. *J Am Soc Nephrol* 2005, **16** : 2234-2240

ALEXANDER SI, SMITH N, HU M, VERRAN D, SHUN A, et coll. Chimerism and tolerance in a recipient of a deceased-donor liver transplant. *New Engl J Med* 2008, **538** : 369-374

ANGLICHEAU D, SUTHANTHIRAN M. Noninvasive prediction of organ graft rejection and outcome using gene expression patterns. *Transplantation* 2008, **86** : 192-199

ARBOGAST H, HÜCKELHEIM H, SCHNEEBERGER H, ILLNER WD, TARABICHI A, et coll. A calcineurin antagonist-free induction/maintenance strategy for immunosuppression



in elderly recipients of renal allografts from elderly cadaver donors : long-term results from a prospective single center trial. *Clin Transplant* 2005, **19** : 309-315

ASHTON-CHESS J, GIRAL M, BROUARD S, SOULILLOU JP. Spontaneous operational tolerance after immunosuppressive drug withdrawal in clinical renal allotransplantation. *Transplantation* 2007, **84** : 1215-1219

BROUARD S, MANSFIELD E, BRAUD C, GIRAL M, HSIEH SC, et coll. Identification of a peripheral blood transcriptional biomarker panel associated with operational renal allograft tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007, **104** : 15448-15453

CIANCIO G, MILLER J, GONWA T. Review of major clinical trials with mycophenolate mofetil in renal transplantation. *Transplantation* 2005, **80** : S191-S200

DUDLEY C, POHANKA E, RIAD H, DEDOCHOVA J, WIJNGAARD P, et coll. Mycophenolate mofetil substitution for cyclosporine A in renal transplant recipients with chronic progressive allograft dysfunction : the « creeping creatinine » study. *Transplantation* 2005, **79** : 466-475

EKBERG H, TEDESCO-SILVA H, DEMIRBAS A, VITKO S, NASHAN B, et coll. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *New England J Med* 2007, **357** : 2562-2575

GRINYO JM, GIL-VERNET S, CRUZADO JM, CALDES A, RIERA L, et coll. Calcineurin inhibitor-free immunosuppression based on antilymphocyte globulin and mycophenolate mofetil in cadaveric kidney transplantation: results after 5 years. *Transplant Int* 2003, **16** : 820-827

GROTH CG, BÄCKMAN L, MORALES JM, CALNE R, KREIS H, et coll. Sirolimus (rapamycin)-based therapy in human renal transplantation: similar efficacy and different toxicity compared with cyclosporine. Sirolimus European Renal Transplant Study Group. *Transplantation* 1999, **67** : 1036-1042

JOHNSON RW, KREIS H, OBERBAUER R, BRATTSTRÖM C, CLAEISSON K, et coll. Sirolimus allows early cyclosporine withdrawal in renal transplantation resulting in improved renal function and lower blood pressure. *Transplantation* 2001, **72** : 777-786

KAWAI T, COSIMI AB, SPITZER TR, TOLKOFF-RUBIN N, SUTHANTHIRAN M, et coll. HLA-mismatched renal transplantation without maintenance immunosuppression. *New Engl J Med* 2008, **358** : 353-361

KNECHTLE SJ, PIRSCH JD, FECHNER HHJR, BECKER BN, FRIEDL A, et coll. Campath-1H induction plus rapamycin monotherapy for renal transplantation: results of a pilot study. *Am J Transplant* 2003, **3** : 722-730

KREIS H, CISTERNE JM, LAND W, WRAMMER L, SQUIFFLET JP, ABRAMOWICZ, et coll. Sirolimus in association with mycophenolate mofetil induction for the prevention of acute graft rejection in renal allograft recipients. *Transplantation* 2000, **69** : 1252-1260

LARSON TS, DEAN PG, STEGALL MD, GRIFFIN MD, TEXTOR SC, et coll. Complete avoidance of calcineurin inhibitors in renal transplantation : a randomized trial comparing sirolimus and tacrolimus. *Am J Transplant* 2006, **6** : 514-522

LEGENDTRE C, BRAULT Y, MORALES JM, OBERBAUER R, ALTIERI P, et coll. Factors influencing glomerular filtration rate in renal transplantation after cyclosporine withdrawal using sirolimus-based therapy : a multivariate analysis of results at five years. *Clin Transplantation* 2007, **21** : 330-336

LE MEUR Y, BÜCHLER M, THIERRY A, CAILLARD S, VILLEMAIN F, et coll. Individualized mycophenolate mofetil dosing based on drug exposure significantly improves patient outcomes after renal transplantation. *Am J Transplant* 2007, **7** : 2496-2503

MEIER-KRIESCHE HU, MAGEE JC, KAPLAN B. Trials and tribulations of steroid withdrawal after kidney transplantation. *Am J Transplant* 2008, **8** : 265-266

MULAY A, HUSSAIN N, FERGUSSON D, KNOLL GA. Calcineurin inhibitor withdrawal from sirolimus-based therapy in kidney transplantation: a systematic review of randomized trials. *Am J Transplant* 2005, **5** : 1748-1756

PASCUAL M, CURTIS J, DELMONICO FL, FARRELL ML, WILLIAMS WWJR, et coll. A prospective, randomized clinical trial of cyclosporine reduction in stable patients greater than 12 months after renal transplantation. *Transplantation* 2003, **75** : 1501-1505

PORT FK, MERION RM, GOODRICH MP, WOLFE RA. Recent trends and results for organ donation and transplantation in the United States, 2005. *Am J Transplant* 2006, **6** : 1095-1100

ROUSSEY-KESLER G, GIRAL M, MOREAU A, SUBRA JF, LEGENDRE C, et coll. Clinical operational tolerance after kidney transplantation. *Am J Transplant* 2006, **6** : 736-746

SCANDLING JD, BUSQUE S, DEJBAKHSH-JONES S, BENIKE C, MILLAN MT, et coll. Tolerance and chimerism after renal and hematopoietic-cell transplantation. *New Engl J Med* 2008, **358** : 362-368

STARZL TE, MURASE N, ABU-ELMAGD K, GRAY EA, SHAPIRO R, et coll. Tolerogenic immunosuppression for organ transplantation. *Lancet* 2003, **361** : 1502-1510

STROBER S, DHILLON M, SCHUBERT M, HOLM B, ENGLEMAN E, et coll. Acquired immune tolerance to cadaveric renal allografts. A study of three patients with total lymphoid irradiation. *New Engl J Med* 1989, **321** : 28-33

SUWELACK B, GERHARDT U, HOHAGE H. Withdrawal of cyclosporine or tacrolimus after addition of mycophenolate mofetil in patients with chronic allograft nephropathy. *Am J Transplant* 2004, **4** : 655-662

SWANSON SJ, HALE DA, MANNON RB, KLEINER DE, CENDALES LC, et coll. Kidney transplantation with rabbit antithymocyte globulin and sirolimus monotherapy. *Lancet* 2002, **360** : 1662-1670

THERVET E, LEGENDRE C, BEAUNE P, ANGLICHEAU D. Cytochrome P450 3A polymorphisms and immunosuppressive drugs. *Pharmacogenomics* 2005, **6** : 37-47

THERVET E, ANGLICHEAU D, LEGENDRE C, BEAUNE P. Role of pharmacogenetics of immunosuppressive drugs in organ transplantation. *Ther Drug Monit* 2008, **30** : 143-150

TRAN HTB, ACHARYA MK, MCKAY DBN SAYEGH MH, CARPENTER CB, et coll. Avoidance of cyclosporine in renal transplantation: effects of daclizumab, mycophenolate mofetil, and steroids. *J Am Soc Nephrol* 2000, **11** : 1903-1909

VAN GELDER T, SILVA HT, DE FIJTER JW, BUDDE K, KUYPERS D, et coll. Comparing mycophenolate mofetil regimens for de novo renal transplant recipients: the fixed-dose concentration-controlled trial. *Transplantation* 2008, **86** : 1043-1051

VINCENTI F, RAMOS E, BRATTSTROM C, CHO S, EKBERG H, et coll. Multicenter trial exploring calcineurin inhibitors avoidance in renal transplantation. *Transplantation* 2001, **71** : 1282-1287

VINCENTI F, LARSEN C, DURRBACH A, WEKERLE T, NASHAN B, et coll. Costimulation blockade with belatacept in renal transplantation. *New Engl J Med* 2005, **353** : 770-781

WEBSTER AC, LEE VW, CHAPMAN JR, CRAIG JC. Target of rapamycin inhibitors (sirolimus and everolimus) for primary immunosuppression of kidney transplant recipients: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Transplantation* 2006, **81** : 1234-1248

WOODLE ES, ASTELLAS STEROID WITHDRAWAL GROUP. A randomized double blind, placebo-controlled trial of early corticosteroid cessation versus chronic corticosteroids: four year results (abstract). *Am J Transplant* 2007, **5** (suppl 2) : 1704

## 6

## Nouveaux immunosuppresseurs

Les progrès de l'immunosuppression des 10 dernières années ont surtout porté sur la diminution de l'incidence du rejet aigu dans une population de patients non immunisés, incidence qui est passée d'environ 50 % en 1995 à 10-20 % en 2008. Ces progrès ont également été associés à l'amélioration de la prévention anti-infectieuse, notamment la généralisation de la prophylaxie anti-CMV chez les patients à risque. La prophylaxie anti-infectieuse permet d'augmenter le niveau d'immunosuppression sans augmenter les complications infectieuses précoces post-greffe. En dehors de l'infection émergente à virus BK qui est probablement directement liée à l'augmentation du niveau d'immunosuppression, il ne semble pas que la diminution de l'incidence de rejet aigu soit associée à une augmentation de la morbidité ou de la mortalité infectieuse.

Ces 10 dernières années ont été une période de changement des pratiques. L'augmentation de l'activité de transplantation n'a pu se faire qu'avec l'augmentation du prélèvement de reins provenant de donneurs plus âgés, dit marginaux. Dans le même temps, l'âge moyen de la population des patients en attente de greffe a augmenté de façon significative. Enfin, bien que l'utilisation systématique du traitement par érythropoïétine (EPO) recombinante ait permis une réduction drastique des transfusions pré-greffe et des risques d'immunisation associés, le nombre des patients en attente de deuxième ou de troisième greffe a augmenté. Ces patients ont souvent développé des anticorps anti-HLA de classe I ou de classe II au cours de leur transplantation antérieure et sont des receveurs à haut risque de perte du greffon d'origine immunologique.

Paradoxalement, malgré la réduction de l'incidence du rejet aigu au cours de la première année de greffe, la durée de vie des greffons n'a pas augmenté de manière significative. La perte des greffons à long terme chez les patients vivants est secondaire à une entité appelée néphropathie chronique d'allogreffe (NCA). La NCA est d'origine immunologique, c'est le rejet chronique, et non immunologique. Chez les patients immunisés avant la greffe et porteurs d'anticorps anti-HLA, le risque de rejet chronique est augmenté. Les traitements immunosuppresseurs actuels contrôlent mal la réponse humorale et la réponse lymphocytaire T mémoire. La néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine est une composante importante de la part non immunologique de la néphropathie chronique d'allogreffe.

Par ailleurs, on constate une augmentation de l'incidence des cancers post-transplantation et de la mortalité par cancer chez les transplantés. Cette augmentation pourrait être liée au renforcement de l'immunosuppression et à l'élévation de l'âge des receveurs.

Les problèmes actuels en transplantation peuvent être résumés ainsi : l'utilisation de greffons de moindre qualité provenant de donneurs âgés ; une population plus âgée et plus souvent immunisée de patients en attente de greffe ; une faible efficacité des traitements sur la réponse immunitaire humorale ainsi que sur la réponse mémoire et sur le rejet chronique ; l'augmentation de l'incidence des cancers. Par ailleurs, il est indispensable de diminuer la toxicité rénale des immunosuppresseurs, car l'insuffisance rénale est une complication majeure de l'immunosuppression en transplantation d'organes (Ojo et coll., 2003).

## **Propriétés souhaitées pour les nouveaux immunosuppresseurs**

Compte tenu des enjeux de la transplantation rappelés ci-dessus, les propriétés recherchées pour les nouveaux immunosuppresseurs peuvent être définies de la façon suivante :

- nouveau mode d'action ;
- efficacité sur le rejet aigu et le rejet chronique : inhibition des lymphocytes mémoires, blocage de la synthèse des alloanticorps, blocage du rejet chronique actif médié par des anticorps, inhibition des mécanismes effecteurs du rejet chronique (tels que la prolifération des cellules musculaires lisses) ;
- bon rapport bénéfice/risque (pas de néphrotoxicité, bonne tolérance globale) ;
- propriétés anti-tumorales ou pas d'effet protumoral ;
- potentiel pour induire la tolérance ;
- s'il s'agit d'un anticorps monoclonal, il doit être humanisé et bien toléré.

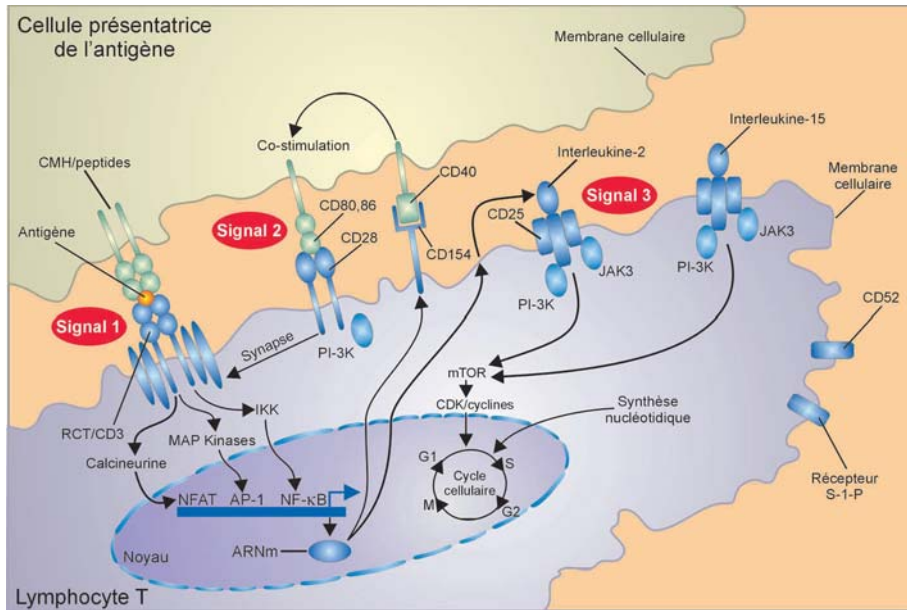
Nous verrons plus loin si les nouveaux immunosuppresseurs en cours de développement remplissent ces objectifs.

## **Mode d'action et classification des immunosuppresseurs**

La quasi-totalité de l'arsenal thérapeutique immunosuppresseur cible la réponse adaptative dirigée contre les alloantigènes du greffon et dont le lymphocyte T représente la clef de voûte : les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> sont les effecteurs des réponses cellulaires cytotoxiques tandis que les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> apportent une aide indispensable à l'initiation des réponses humérales.

## Bases moléculaires de l'activation lymphocytaire

L'activation d'un lymphocyte T requiert 3 signaux (figure 6.1).



**Figure 6.1 : Trois signaux d'activation lymphocytaire T (d'après Halloran, 2004)**

AP-1 : *activating protein-1* ; CDK : *cyclin-dependent kinase* ; CMH : complexe majeur d'histocompatibilité ; IKK : *I $\kappa$ B kinase* ; JAK3 : *Janus kinase 3* ; mTOR : *mammalian-target-of-rapamycin* ; NFAT : *nuclear factor of activated T cells* ; NF- $\kappa$ B : *nuclear factor- $\kappa$ B* ; PI-3K : *phosphoinositide-3-kinase* ; RCT : récepteur de la cellule T ; S-1-P : *sphingosine-1-phosphate*

### Signal 1

Le signal 1 consiste en la reconnaissance par le récepteur spécifique (RCT) présent sur la surface du clone lymphocytaire, du complexe HLA et du peptide porté par la cellule présentatrice d'antigène (CPA). L'oligomérisation des RCT aboutit à la déphosphorylation de deux tyrosine kinases, Fyn et Lck. Ces deux tyrosine kinases initient une cascade de phosphorylations activant la phospholipase C $\gamma$  qui dégrade le phosphatidylinositol 6,5 phosphate en inositol triphosphate (IP3) et en diacylglycérol. L'augmentation de l'IP3 intra-cytoplasmique provoque la libération du calcium stocké dans le réticulum endoplasmique. L'augmentation du calcium intracellulaire active un ensemble de protéines notamment une phosphatase : la calcineurine. La calcineurine activée agit en déphosphorylant le facteur de transcription NF-AT (*Nuclear Factor of Activated T cell*) qui peut alors migrer vers le noyau.

Simultanément, le diacylglycérol active la protéine kinase C (PKC), une sérine thréonine kinase qui agit sur de nombreux substrats, en particulier

I $\kappa$ B associée dans le cytoplasme au facteur de transcription NF- $\kappa$ B sous forme d'un complexe inactif. La phosphorylation d'I $\kappa$ B entraîne son ubiquitination et sa dégradation par le protéasome, libérant NF- $\kappa$ B qui migre alors vers le noyau. L'activation de la PKC entraîne également la synthèse *de novo* des produits des proto-oncogènes c-fos et c-jun qui s'associent pour constituer le facteur de transcription AP-1.

NF-AT, NF- $\kappa$ B et AP-1 se fixent aux séquences régulatrices situées en 5' du promoteur de différents gènes notamment ceux qui codent pour l'interleukine 2 (IL-2) et la chaîne  $\alpha$  du récepteur à l'IL-2 (CD25). Cette dernière, en s'associant aux chaînes  $\beta$  et  $\gamma$  d'expression constitutive, lui confère une très haute affinité pour l'IL-2.

### **Signal 2**

Le signal 2 (co-stimulation) est indispensable à la mise en place complète du programme d'activation lymphocytaire. En l'absence de co-stimulation, le signal 1 conduit à un état d'anergie lymphocytaire. Le décryptage des voies de co-stimulation fait actuellement l'objet de recherches intensives. En plus de la première voie identifiée (CD28/CD80, CD86), de très nombreuses autres interactions existent entre ligands et récepteurs, exprimés au niveau des CPA d'une part et des lymphocytes T d'autre part, régulant de façon positive ou négative la réponse immune. Les couples de ligands aux interactions positives suivants sont ainsi déjà définis : CD40L/CD40, CD2/LFA3, ICOS/ICOL, OX40/OX40L, CD27/CD70, 4-1BB/4-1BBL (tableau 6.1). Le principal couple de ligand/récepteur ayant un effet inhibiteur de l'activation lymphocytaire et permettant de contrôler l'amplification de la réponse immune est le couple CD28/CTLA4. Finalement, ce « signal 2 », qui correspond plutôt à l'intégration de nombreux signaux, va déterminer la nature du programme biologique mis en place par le lymphocyte (activation *versus* anergie, polarisation...).

La conjonction des signaux 1 et 2 permet au lymphocyte de passer de la phase G0 (repos) à la phase G1 (transformation lymphoblastique) au cours de laquelle un grand nombre de gènes sont transcrits (notamment ceux de l'IL-2 et du CD25).

### **Signal 3**

Le signal 3 est initié par l'IL-2, un facteur de croissance des lymphocytes T. Agissant de manière autocrine et paracrine, l'IL-2 se fixe sur son récepteur de haute affinité et transduit un signal via mTOR (*mammalian Target of Rapamycin*) responsable de la progression en phase S du cycle cellulaire. C'est au cours de la phase S que commence la réplication de l'ADN qui culmine en phase G2. Cette réplication, prélude indispensable à la division cellulaire, nécessite la synthèse des bases puriques et pyrimidiques. L'IL-2 n'est pas le seul facteur de prolifération du lymphocyte T. D'autres cytokines

dont les récepteurs appartiennent à la même famille peuvent également être impliqués. Il s'agit de l'IL-15, l'IL-7, l'IL-9, l'IL-21 et l'IL-4. Les interleukines de la famille de l'IL-2 se fixent sur leurs récepteurs hétérodimériques et leur fixation permet le rapprochement des chaînes du récepteur, non liées de manière covalente. Les chaînes de ces récepteurs sont associées dans leur partie intracellulaire aux protéines kinases de la famille JAK. La liaison de la cytokine à son récepteur initie ainsi le rapprochement des kinases JAK associées aux chaînes du récepteur qui s'activent par transphosphorylation. Cette activation des kinases JAK est l'élément initiateur de la transduction du signal du récepteur.

**Tableau 6.1 : Mode d'action des immunosuppresseurs utilisés en transplantation d'organes en 2008**

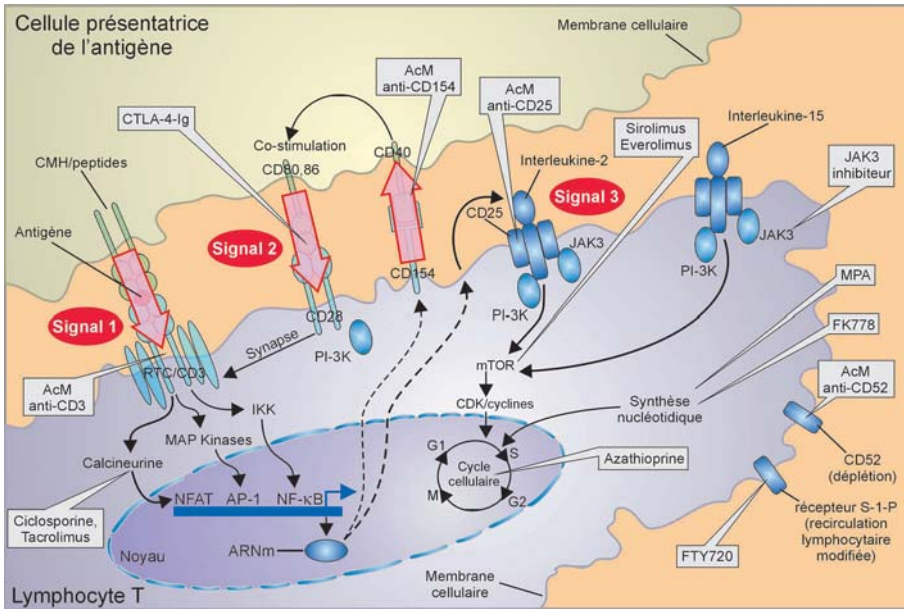
Mécanisme d'action	Molécule
<b>Déplétants</b>	
Pan-déplétants (déplétants T et B)	Alemtuzumab (Campath-1H®)
Déplétants T	Anticorps polyclonaux Anti-lymphocytaire OKT3 (effet mixte : déplétion de 20 % du pool lymphocytaire T/ agit principalement en bloquant le signal 1)
Déplétants B	Rituximab
<b>Inhibiteurs de l'activation lymphocytaire</b>	
Inhibiteurs du signal 1	
– Anticalcineurine	Ciclosporine, tacrolimus
– Autres	OKT3 et autres anticorps anti-CD3
Inhibiteurs du signal 2	Belatacept
<b>Inhibiteurs de la prolifération lymphocytaire</b>	
Inhibiteurs du signal 3 (G1→S)	Anti-CD25, inhibiteurs de mTOR
Inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques	
– Bases puriques	Azathioprine, mycophénolate mofétil
– Bases pyrimidiques	Leflunomide, brequinar
Alkylant	Cyclophosphamide

NB : Les corticostéroïdes ont une action immunosuppressive complexe, résultante d'effets multiples.

## Classification des immunosuppresseurs actuels en fonction de leur mode d'action

On peut classer les immunosuppresseurs actuels en fonction de la phase de la réponse immune ciblée par leur mécanisme d'action (figure 6.2) et de leur effet sur les populations lymphocytaires (anticorps déplétants ou non déplétants). Le mode d'action des immunosuppresseurs couramment utilisés en transplantation d'organes est indiqué dans le tableau 6.I.





**Figure 6.2 : Place des immunosuppresseurs au cours de la réponse immunitaire (d'après Halloran, 2004)**

AP-1 : activating protein-1 ; CDK : cyclin-dependent kinase ; CMH : complexe majeur d'histocompatibilité ; IKK : IκB kinase ; JAK3 : Janus kinase 3 ; mTOR : mammalian-target-of-rapamycin ; NFAT : nuclear factor of activated T cells ; NF-κβ : nuclear factor-κβ ; PI-3K : phosphoinositide-3-kinase ; RCT : récepteur de la cellule T ; S-1-P : sphingosine-1-phosphate

## Nouveaux immunosuppresseurs

Des nouvelles molécules immunosuppressives aux modes d'actions divers sont régulièrement testées *in vitro*, puis *in vivo* chez l'animal avant d'être utilisées chez l'homme en phase I, puis II et III. Pour des raisons liées à une efficacité insuffisante, ou à un mauvais rapport bénéfice/risque, peu de ces molécules parviendront sur le marché des immunosuppresseurs. On peut ainsi citer le FTY 720 qui n'a pas été retenu pour la transplantation d'organes en raison d'œdème maculaire chez le diabétique, et qui reste en cours d'évaluation dans le cas de la sclérose en plaque, le FK 778 dont le développement a été arrêté en raison de son faible rapport bénéfice/risque lié en partie à l'apparition d'anémie. Nous avons donc choisi ici de présenter soit des molécules déjà en phase III, qui devraient obtenir leur autorisation de mise sur le marché très prochainement (belatacept), soit des molécules en cours d'évaluation plus précoce, dont les mécanismes d'action sont originaux, et dont les données actuelles laissent espérer une mise sur le marché dans l'immunosuppression en transplantation d'organes.

Les nouveaux immunosuppresseurs sont classés selon leur mode d'action, de la même façon que les immunosuppresseurs listés dans le tableau 6.I.

## Inhibition du signal 1

L'ISA 247 est un inhibiteur de la calcineurine, en cours de développement par Isotechnika dans le cas du psoriasis (phase III) et de la prévention du rejet en transplantation (phase II). Des études précliniques pour le traitement de l'uvéïte sont également en cours (Anglade et coll., 2007). Les données expérimentales suggèrent que l'ISA 247 est trois fois plus efficace que la ciclosporine pour la prévention du rejet aigu et significativement moins néphrotoxique. Cette combinaison d'une meilleure efficacité avec une meilleure tolérance rénale apporte un bénéfice thérapeutique sur les autres inhibiteurs de la calcineurine. On note également moins de diabète et de tremblement (Dumont, 2004 ; Anonyme, 2007). Il reste à savoir si ces avantages seront retrouvés sur une large population de patients et s'ils seront suffisamment convaincants pour aboutir à une autorisation de mise sur le marché en transplantation.

## Inhibition du signal 1 et du signal 2

L'AEB-071 est un inhibiteur de l'activation précoce lymphocytaire T via le blocage de la protéine kinase (PKC). La PKC est impliquée dans les voies de signalisation des lymphocytes T et B (Tan et Parker, 2003). Il existe plusieurs isoformes de la PKC. La PKC $\delta$  est essentiellement exprimée dans les lymphocytes T et active les facteurs de transcription AP-1 et NF- $\kappa$ B, conduisant à la production de l'IL-2. Les études *in vitro* montrent que l'AEB-071 exerce ses fonctions immunosuppressives en bloquant les différentes isoformes de la PKC, l'activation cellulaire T précoce, la production d'IL-2 et la prolifération cellulaire induite par les facteurs de croissance (Yabu et Vincenti, 2007). L'AEB-071 inhibe donc l'activation lymphocytaire T précoce par une voie indépendante de la calcineurine. Les signaux de transduction initiés par le RCT et par le CD28 (Yabu et Vincenti, 2007) sont bloqués par cet inhibiteur. L'AEB-071 est utilisé par voie orale et métabolisé par le cytochrome P450. Chez les volontaires sains, l'AEB-071 réduit la production intracellulaire d'IL-2 et a une activité antiproliférative similaire à celle du MMF (Yabu et Vincenti, 2007). Les études précliniques chez le primate indiquent que l'AEB-071 prolonge la survie des greffons rénaux en association ou non avec la ciclosporine (Yabu et Vincenti, 2007). L'AEB-071 est efficace dans le psoriasis (Skvara et coll., 2008). Les essais cliniques de phase II sont en cours et évaluent l'efficacité et la tolérance de l'AEB-071 en combinaison avec l'évérolimus, le tacrolimus, et le mycophénolate mofétil. La tolérance clinique semble bonne et l'AEB-071 ne semble pas néphrotoxique. L'AEB-071 se place donc en bonne position pour remplacer les inhibiteurs de la calcineurine, mais des études de phase III sont nécessaires pour mieux juger de sa tolérance clinique et de son efficacité en transplantation d'organes chez l'homme.

## Inhibition du signal 2

L'inhibition du co-signal a depuis longtemps été considérée comme une des principales voies permettant d'induire la tolérance. En effet, *in vitro* le blocage des voies de co-stimulation tout en maintenant la présentation de l'antigène par la voie du RCT induit une anergie lymphocytaire spécifique de l'antigène. Les premières expériences *in vivo* chez la souris montraient que l'inhibition des voies de co-stimulation par le blocage de l'interaction CD28/CD80-CD86 avec la molécule de fusion CTLA4-Ig (développée pour inhiber la voie de co-stimulation induite par la liaison à CD80/CD86) induisait une tolérance immunitaire en greffe de peau et greffe de cœur (Larsen et coll., 1996). Ces expériences réalisées en 1996 ont provoqué un grand enthousiasme et le développement de nombreuses molécules inhibitrices du co-signal de stimulation chez l'homme. Cependant, l'induction de tolérance n'a pas pu être obtenue chez les primates avec des protocoles similaires. C'est la redondance des voies de co-stimulation qui explique, chez l'homme et le primate, l'absence d'induction de tolérance par le blocage unique de la voie du CD28. Malgré l'échec des premiers inhibiteurs du co-signal de stimulation à induire la tolérance, les inhibiteurs de la voie CD28 sont des immunosuppresseurs prometteurs, par leur spécificité sur le blocage de la réponse immune, leur mode d'action complémentaire de ceux déjà existants, et leur profil de toxicité favorable, n'induisant ni néphrotoxicité ni complications métaboliques contrairement aux inhibiteurs de la calcineurine ou aux inhibiteurs de mTOR (Vincenti et Luggen, 2007).

### *Signal de co-stimulation lié à CD28*

L'interaction entre CD28 et ses ligands, CD80 et CD86, est essentielle pour initier la réponse lymphocytaire T, spécifique de l'antigène. Le CD28 est exprimé de manière constitutive à la surface de 80 % des lymphocytes T (Linsley et coll., 1993). L'augmentation de l'expression de CD28, suivant l'activation lymphocytaire et l'engagement de CD28 avec ses deux ligands CD80 et CD86, favorise la prolifération et la survie cellulaire grâce à l'expression de protéines anti-apoptotiques, prépare la machinerie cellulaire aux besoins nécessaires à l'expansion clonale, et augmente la sécrétion cytokinique. Les signaux transmis par le CD28 induisent la différenciation cellulaire T en phénotype Th1, la production d'anticorps par les lymphocytes B et la prolifération des lymphocytes T activés (Alegre et coll., 2001).

L'expression des ligands de CD28, CD86 et CD80, n'est pas régulée de la même manière. CD86 est constitutivement exprimé à la surface des CPA. Son expression est augmentée rapidement à la surface lors de la rencontre entre la CPA et le lymphocyte T. Le niveau d'expression membranaire de CD80 est plus faible sur les cellules au repos, et augmente plus tardivement après une stimulation lymphocytaire prolongée. Ces différences d'expression suggèrent deux rôles différents pour ces deux ligands de CD28 : CD86 serait important pour initier l'activation lymphocytaire T, tandis que CD80 serait

impliqué dans le maintien de la réponse immune. CD80 et CD86 se lient à un autre récepteur membranaire des lymphocytes T, CTLA-4, qui partage 30 % d'homologie avec CD28 (Linsley et coll., 1992). L'affinité de CTLA-4 pour CD80 et CD86 est 500 à 2 500 fois plus importante que celle de CD28. L'expression de CTLA-4 débute après 24 à 48 heures d'activation lymphocytaire, et inhibe l'activation des lymphocytes T CD4 et CD8 naïfs ou déjà activés. Ceci induit une diminution de l'expression du récepteur à l'IL-2 et un blocage des lymphocytes T en phase G1 (Alegre et coll., 2001). De plus, CD86 se lierait préférentiellement à CD28 et CD80 à CTLA-4.

### **Abatacept et bélatacept : inhibiteurs du co-signal médié par CD28**

Deux molécules ont été développées pour inhiber la voie de co-stimulation médiée par CD28 : l'abatacept, molécule de fusion entre le domaine de liaison extracellulaire de CTLA-4 et la fraction Fc d'une IgG1, et le belatacept, forme modifiée de l'abatacept, pour obtenir une meilleure affinité avec le CD80/CD86. Ces deux molécules, en se liant à CD80 et CD86 avec une meilleure affinité que CD28, permettent un blocage de la voie du co-signal médié par CD28 mais n'ont pas d'effet sur les autres voies de co-stimulation (Vincenti, 2008). *In vitro*, l'abatacept inhibe la prolifération lymphocytaire et la réponse immunitaire humorale (Judge et coll., 1996). L'abatacept a essentiellement été développé dans le traitement des formes modérée ou sévère de la polyarthrite rhumatoïde, résistantes aux anti-TNF (Ostor, 2008) ou au méthotrexate et a obtenu l'AMM (autorisation de mise sur le marché) par la FDA (*Food and Drug Administration*) dans le cadre de cette indication. L'abatacept a une efficacité démontrée dans d'autres maladies auto-immunes telles que le psoriasis (Abrams et coll., 1999).

Le bélatacept est une forme modifiée par mutagenèse de l'abatacept au niveau des sites de liaison au ligand, ayant une meilleure affinité pour CD80 et surtout CD86 qui est un élément clef dans le déclenchement de la réponse allo-immune (Larsen et coll., 2005). Ces modifications diminuent le coefficient de dissociation pour CD86 et CD80 et entraînent une efficacité 10 fois plus importante de l'inhibition de la prolifération lymphocytaire T en réponse aux alloantigènes *in vitro* et de la diminution de la synthèse d'anticorps *in vivo* chez le primate (Larsen et coll., 2005). Chez le primate, le bélatacept permet une prolongation de la survie des greffons, seul ou en association avec du mycophénolate mofétil et des corticoïdes. De plus, en présence de bélatacept, les primates ne développent pas d'anticorps anti-HLA (Larsen et coll., 2005) ce qui a un intérêt considérable dans la prévention du rejet chronique. Ces études précliniques montrent que le bélatacept est efficace pour bloquer la réponse allo-immune et a un potentiel important en transplantation d'organes.

Une étude de phase II chez l'homme a été conduite après ces premiers résultats encourageants chez le primate. Le bélatacept à deux doses différentes a été associé à une induction par un anticorps anti-récepteur de l'IL-2 (basiliximab), du mycophénolate mofétil et des corticoïdes, et comparé à la ciclosporine

dans une étude randomisée ouverte multicentrique, chez des patients recevant une première greffe de rein, et à faible risque immunologique (Vincenti et coll., 2005). Les patients sous bélatcept avaient la même incidence de rejet aigu au cours des 6 premiers mois que les patients sous ciclosporine, mais avaient à 6 mois et à un an une meilleure fonction rénale. De plus, on notait une moindre fibrose interstitielle et atrophie tubulaire sur les biopsies systématiques réalisées dans le groupe bélatcept que dans le groupe ciclosporine. Le profil de tolérance clinique était très bon, sans effet secondaire propre au produit démontré. En effet, dans les deux groupes sous bélatcept (deux doses différentes), les taux de complication cardiovasculaires et métaboliques, telles que hypertension artérielle, dyslipidémie et diabète post-transplantation, étaient inférieurs à ceux du groupe sous ciclosporine (Vincenti et coll., 2005). De manière intéressante, une étude préliminaire réalisée dans une partie de la population incluse dans cet essai thérapeutique a montré que le traitement par bélatcept ne semblait pas favoriser l'expansion de cellules lymphocytaires T régulatrices, suggérant que le traitement devait être poursuivi au long cours pour garder son efficacité (Chavez et coll., 2007). Les études de phase III sont actuellement en cours.

Il est donc très probable que le bélatcept obtienne une AMM pour la transplantation d'organes. Ses avantages sont sa spécificité immunologique, qui limite les effets secondaires, son efficacité comparable à la ciclosporine dans la prévention du rejet aigu, sa capacité chez le primate à diminuer la réponse anticorps allogénique, son absence de néphrotoxicité et sa très bonne tolérance clinique. Le point faible est le mode d'administration, parentérale, qui pourrait cependant être un avantage pour augmenter l'observance thérapeutique. Enfin, sa capacité à induire la tolérance n'a été montrée que dans les modèles murins. Cependant, en association avec d'autres inhibiteurs du co-signal et un traitement par la rapamycine, le bélatcept pourrait être un des immunosuppresseurs en première place dans les protocoles d'induction de tolérance. Enfin, il ne possède pas de propriété intrinsèque anti-tumorale.

### ***Autres inhibiteurs du signal 2***

Les anticorps monoclonaux anti-CD80 et anti-CD86 ont montré leur capacité dans la prévention du rejet rénal chez le primate, seuls (Kirk et coll., 2001), ou en association avec les immunosuppresseurs conventionnels (Hausen et coll., 2001). Une étude de phase I chez l'homme a montré que les anticorps anti-CD80 (h1F1) et anti-CD86 (h3D3) en association avec de la ciclosporine, du mycophénolate mofétil et des stéroïdes étaient bien tolérés (Vincenti, 2002). Des études cliniques sont encore nécessaires pour connaître la place des anticorps anti-CD80 et anti-CD86 dans l'arsenal thérapeutique en transplantation d'organes.

Les anticorps monoclonaux inhibiteurs du CD28 sont intéressants car ils n'inhibent pas la liaison de CD86 et CD80 avec CTLA-4 mais permettent de maintenir le signal négatif induit par CTLA-4, ce qui augmente la durée du blocage de l'activation des lymphocytes. L'utilisation d'anticorps

monoclonaux anti-CD28 prévient le rejet aigu et chronique dans les modèles de transplantation rénale chez le rongeur (Laskowski et coll., 2002 ; Haspot et coll., 2005). Cependant, d'autres anticorps anti-CD28 agonistes induisent une activation lymphocytaire majeure, responsable d'un orage cytokinique et induisant une défaillance multi-organe chez les 6 premiers volontaires sains (Suntharalingam et coll., 2006). Des études précliniques et cliniques complémentaires sont nécessaires pour sélectionner des anticorps anti-CD28 dépourvus de tout effet agoniste avant une utilisation chez l'homme.

Le blocage de la voie CD40/CD40L (CD154) a été exploré depuis de nombreuses années pour induire la tolérance dans les modèles animaux. Les anticorps anti-CD154 ont une efficacité démontrée pour la prévention du rejet de cœur, de rein et de peau et l'induction de tolérance dans les modèles murins (Hancock et coll., 1996 ; Larsen et coll., 1996), et chez le primate (Kirk et coll., 1999). Dans un modèle murin de transplantation rénale, les anticorps anti-CD154 ont un effet inhibiteur sur les lymphocytes cytotoxiques et un effet facilitateur sur les cellules T régulatrices (Meng et coll., 2008). Le blocage de la voie CD40 par CD40Ig induit la tolérance à la greffe de cœur par le développement de cellules régulatrices CD8 (Guillonnet et coll., 2007). Cependant, ces propriétés tolérogènes n'ont pas été confirmées chez le primate (Kirk et coll., 1999). De plus, les essais chez l'homme ont été interrompus en raison de thromboses artérielles, possiblement liées à la présence de CD154 sur les plaquettes, favorisant le thrombus artériel (Andre et coll., 2002). D'autres anticorps anti-CD154, tels que IDEC-131, ont été développés et ont montré des propriétés tolérogènes chez le primate en association à un traitement par rapamycine et des transfusions spécifiques du donneur (Preston et coll., 2005 ; Pearl et coll., 2007). L'utilisation d'IDEC-131 est donc prometteuse en transplantation chez l'homme mais devra préalablement montrer l'absence de propriétés thrombogènes.

Le développement d'anticorps anti-CD40 (Haanstra et coll., 2003 et 2005 ; Imai et coll., 2007) pourrait permettre d'inhiber le couple CD40/CD40L dont la fonction co-stimulatrice est très importante dans l'activation lymphocytaire, sans induire les effets secondaires thrombogènes liés au blocage de CD154.

### **Inhibition du signal 3**

Les inhibiteurs du signal 3 sont actuellement les inhibiteurs de la protéine mTOR. Les nouveaux inhibiteurs portent essentiellement sur le blocage de la protéine kinase JAK3.

#### ***Inhibiteurs de JAK3***

Les kinases de la famille JAK (*Janus Kinase*) sont des tyrosine kinases cytoplasmiques associées à la partie intracellulaire des chaînes des récepteurs de la superfamille des récepteurs de cytokine. Quatre tyrosine kinases appartiennent à la famille des JAK kinases : JAK1, JAK2, JAK3 et TYK2. La tyrosine kinase JAK3 est une cible tout particulièrement intéressante pour

inhiber le système immunitaire car elle est associée à la chaîne  $\gamma_c$  des récepteurs de la famille de l'interleukine 2. La chaîne  $\gamma_c$  est un des composants des récepteurs de l'IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 et IL-21. Le rôle crucial de  $\gamma_c$  dans le système immunitaire est illustré de manière remarquable : ses mutations sont responsables d'un déficit immunitaire grave, le DICS (déficit immunitaire combiné sévère) lié au chromosome X. Les enfants porteurs de ces mutations n'ont pas de lymphocytes T, pas de lymphocytes NK et leurs lymphocytes B ne sont pas fonctionnels. Ces enfants décèdent en absence de traitement spécifique dans la première année de vie. On sait maintenant que les mutations de la kinase JAK3 entraînent un phénotype identique aux mutations de la chaîne  $\gamma_c$ . Les mutations de  $\gamma_c$ , comme celles de JAK3, induisent une dysfonction de 6 récepteurs de cytokines impliquées dans la prolifération lymphocytaire, la différenciation des thymocytes, la commutation isotypique, la prolifération et la différenciation des lymphocytes NK, et la fonction des cellules CD8 mémoire. JAK3 est exprimé principalement dans les cellules lymphoïdes et myéloïdes, à haut niveau dans les cellules NK et les thymocytes, dans les cellules T et B activées, mais pas dans les lymphocytes au repos.

Les inhibiteurs de JAK3 entraînent un blocage de la transduction du signal des cytokines de la famille de l'IL-2, soit IL-2, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21 et sont des immunosuppresseurs potentiellement intéressants car ciblant principalement les cellules du système immunitaire, et inhibant préférentiellement les cellules lymphocytaires activées impliquées dans la réponse allo-immune. L'inhibiteur de JAK3 CP-690,550 a été développé comme immunosuppresseur par voie orale en transplantation. Sa capacité à inhiber JAK3 est 1 000 fois supérieure à celle des autres inhibiteurs de JAK3 (Borie et coll., 2003 ; Kudlacz et coll., 2004). Dans une étude en transplantation rénale chez les primates, le CP-690,550 prolonge de manière significative et dépendante de la dose la survie des greffons rénaux par rapport au groupe témoin confirmant son efficacité dans la prévention du rejet d'allogreffe (Borie et coll., 2005). L'effet secondaire principal noté est une anémie observée sous forte dose, probablement liée à l'inhibition croisée de JAK2, associée au récepteur de l'EPO. D'autres inhibiteurs de JAK3 ont été essayés en transplantation : le NC 1153, testé avec succès dans un modèle de transplantation rénale chez le rat (Stepkowski et coll., 2006) et le R348 qui a aussi une efficacité dans la prévention du rejet d'allogreffe cardiaque chez le rat, et semble particulièrement synergique dans ce modèle en association avec le tacrolimus (Deuse et coll., 2008).

Les études de phase I chez l'homme ont montré que le CP-690,550 était bien toléré, les effets secondaires principaux étaient des troubles digestifs d'intensité faible à modérée. Il n'y avait pas de dégradation de la fonction rénale. Une anémie était observée aux plus fortes doses de 15 et 30 mg. Des mesures pharmacocinétiques suggéraient une interaction entre les inhibiteurs de la calcineurine et le CP-690,550 (Tedesco-Silva et coll., 2006a).

Les études de phase II avec le CP-690,550 sont en cours pour préciser l'efficacité et la tolérance des anti-JAK3 en transplantation. Le CP-690,550 à

deux doses différentes est comparé au tacrolimus, en association avec du mycophénolate mofétil, et des corticostéroïdes après une thérapie d'induction par un anticorps anti-récepteur de l'IL-2.

### **Inhibition de la migration lymphocytaire : FTY 720**

Le FTY 720 est un analogue de structure des sphingosides et un agoniste des récepteurs de la phosphatase S1P. Il inhibe la migration des lymphocytes qui sont bloqués dans les organes lymphoïdes secondaires dès la première injection (Yopp et coll., 2006). Les études cliniques ont montré son efficacité dans la prévention du rejet aigu avec un effet synergique en combinaison avec la ciclosporine ou le tacrolimus. Il a un effet lymphopéniant prédominant sur les lymphocytes T, et agit sur la sous population CD4+ qui est bloquée dans les organes lymphoïdes secondaires. Il n'y a pas d'action sur les cellules NK et sur les monocytes. Le FTY 720 peut bloquer le rejet chronique dans un modèle de greffe cardiaque chez le rat (Zhang et coll., 2006) et a aussi un effet anti-angiogénique et anti-tumoral *in vivo* et *in vitro* (Nagaoka et coll., 2008 ; van Meeteren et coll., 2008).

Le FTY 720 semblait donc un immunosuppresseur très prometteur en raison de son mode d'action très original. Les premières études chez l'homme ont montré une efficacité comparable à celle du MMF (Salvadori et coll., 2006 ; Tedesco-Silva et coll., 2006b). Cependant, deux effets secondaires sérieux ont été notés : une bradycardie lors de la première dose et surtout l'apparition d'œdèmes maculaires chez les patients diabétiques (Tedesco-Silva et coll., 2006a). Cet œdème maculaire a entraîné l'interruption du développement en transplantation. Le FTY 720 pourrait être réservé aux patients ayant une sclérose en plaque (Horga et Montalban, 2008).

### **Nouveaux anticorps monoclonaux**

Les anticorps monoclonaux ont l'avantage de cibler très précisément la réponse immune. Cependant, malgré le nombre important d'anticorps disponibles pour la recherche biomédicale, seul un tout petit nombre a obtenu une AMM en transplantation d'organes. Les nouveaux anticorps monoclonaux en cours de développement indiqués ci-dessous devraient pouvoir être utilisés en transplantation au cours des prochaines années.

#### **Anti-CD3 humanisés non mitogéniques**

Les anticorps anti-CD3 (OKT3, anticorps murin IgG2a) ont été les premiers anticorps monoclonaux utilisés en transplantation d'organes chez l'homme au début des années 1980. Ils ont été largement utilisés avant la mise à disposition d'une nouvelle génération d'immunosuppresseurs (mycophénolate



mofétil, tacrolimus et anticorps anti-récepteurs à l'IL-2) en traitement d'induction ou en traitement curatif des rejets aigus corticorésistants. Les études contrôlées avaient en effet rapidement montré que l'OKT3 était un immunosuppresseur très puissant dans le traitement des rejets aigus. Cependant, les deux principales limites dans l'utilisation de l'OKT3 qui sont l'immunisation xénogénique liée à sa nature murine et ses effets secondaires ont conduit à l'abandon progressif de l'OKT3 en transplantation d'organes. L'immunisation anti-OKT3 est fréquente et peut conduire à son inefficacité (Legendre et coll., 1992). Elle rend quasi impossible une utilisation postérieure. Les effets secondaires sont un orage cytokinique lors des deux premières injections pouvant entraîner une fièvre élevée, des frissons, vomissements, une diarrhée, un œdème pulmonaire lésionnel, des arthralgies, myalgies, et plus rarement un œdème cérébral. Cet orage cytokinique est lié à l'activation rapide et massive de l'ensemble des lymphocytes T circulants lors du pontage entre le CD3 lymphocytaire et le monocyte via la fixation de la fraction Fc de l'anticorps sur son récepteur membranaire monocytaire (Ferran et coll., 1993).

Les nouveaux anticorps anti-CD3 non mitogéniques ont été développés pour éviter ces deux écueils. La genèse d'anticorps humanisés ou chimériques diminue considérablement le risque d'immunisation. Par ailleurs, l'introduction de mutations au niveau des gènes codant pour plusieurs acides aminés dans la fraction Fc des anticorps anti-CD3 réduit leur liaison aux récepteurs Fc monocytaires et en font des anticorps non activateurs. L'activation lymphocytaire après injection des anticorps anti-CD3 non mitogéniques est très diminuée et la libération de cytokines pro-inflammatoires très faible. Ces modifications structurales ont rendu les anticorps anti-CD3 bien tolérés chez l'homme. Les principaux effets secondaires retrouvés sont un syndrome pseudo-grippal modéré et bien contrôlé par le paracétamol (Chatenoud, 2004). Quatre anticorps anti-CD3 non mitogéniques ont été développés (tableau 6.II). Ils ont été utilisés dans le traitement du rejet aigu rénal chez l'homme (Friend et coll., 1999), la greffe d'îlots de Langerhans (Hering et coll., 2004), le rhumatisme psoriasique (Utset et coll., 2002) et surtout le diabète auto-immun chez les modèles murins (Belghith et coll., 2003) et chez l'homme (Keymeulen et coll., 2005). Les anticorps anti-CD3 mitogéniques et non mitogéniques entraînent une déplétion partielle lymphocytaire T, et une modulation négative du récepteur T (Chatenoud, 2006) qui rend impossible la présentation de l'antigène par la CPA. De plus, les anticorps anti-CD3 ont la capacité d'induire une tolérance vis-à-vis d'alloantigènes et d'autoantigènes et peuvent restaurer la tolérance au soi dans le contexte de pathologies auto-immunes établies (Chatenoud, 2005 et 2007). Ils ont la particularité de bloquer les cellules T cytotoxiques et de favoriser l'émergence de cellules régulatrices CD4CD25+ adaptatives chez la souris (You et coll., 2007) et chez l'homme. L'émergence de cellules régulatrices CD8+ chez l'homme a aussi été décrite (Bisikirska et coll., 2005). C'est sur cette base que les anticorps anti-CD3 ont été réintroduits en clinique, en auto-immunité, sous la forme

d'anticorps humanisés non mitogéniques pour une utilisation comme agents tolérogènes. Deux essais thérapeutiques de phase II chez des patients diabétiques de type I ont confirmé leur bonne tolérance clinique (Herold et coll., 2002 ; Keymeulen et coll., 2005). Chez les patients diabétiques ayant reçu les anticorps anti-CD3 non mitogéniques pendant quelques jours seulement, la production d'insuline endogène était préservée après 6, 12 et même 24 mois de traitement (Herold et coll., 2005). Cet effet se traduit également par une diminution significative des doses d'insuline exogène nécessaires au maintien d'un bon contrôle métabolique (Herold et coll., 2005).

**Tableau 6.II : Différents anticorps anti-CD3 non mitogéniques en cours de développement chez l'homme (d'après Chatenoud, 2005)**

Indication clinique	Anticorps monoclonal	Essai	Nombre de patients	Résultats	Références
Rejet aigu d'allogreffe rénale	Traitement avec OKT3γ1 Ala-Ala pendant 12 jours consécutifs (en association avec immunosuppresseurs conventionnels)	Phase I	7 patients traités par anticorps	Bon profil de sécurité Rejet réversible chez 5 patients sur 7	Woodle et coll., 1999
Rejet aigu d'allogreffe rénale	Traitement avec ChAglyCD3 pendant 8 jours consécutifs (en association avec immunosuppresseurs conventionnels)	Phase I	9 patients traités par anticorps	Bon profil de sécurité Rejet réversible chez 7 patients sur 9	Friend et coll., 1999
Diabète insulino-dépendants auto-immuns	Traitement avec OKT3γ1 Ala-Ala pendant 14 jours consécutifs	Phase I/II	24 (12 avec traitement actif ; 12 témoins non traités)	À 1 an, préservation de la masse de cellules β chez 9 patients sur 12 <i>versus</i> 2 contrôles non traités sur 12	Herold et coll., 2002
Arthrite psoriasique	Traitement avec OKT3γ1 Ala-Ala pendant 12-14 jours consécutifs	Phase I/II	7 patients traités par anticorps	Six patients sur 7 avaient une amélioration ≥ 75 % du nombre d'articulations avec inflammation	Utset et coll., 2002
Prévention du rejet d'allogreffe d'îlots de Langerhans	Traitement avec OKT3γ1 Ala-Ala pendant 12 jours consécutifs (en association avec immunosuppresseurs conventionnels)	Phase I	6 patients traités par anticorps	Indépendance à l'insuline et maintien de l'indépendance chez 4 patients sur 6, avec un contrôle métabolique normal	Hering et coll., 2004
Diabète insulino-dépendants auto-immuns	Traitement avec ChAglyCD3 pendant 6 jours consécutifs	Phase II (double aveugle, contrôle placebo)	80 (40 avec traitement actif ; 40 avec placebo)	Diminution significative des besoins en insuline durant les 18 mois suivant le traitement	Keymeulen et coll., 2005

En conclusion, les anticorps anti-CD3 humanisés non mitogéniques sont en cours de phase III chez l'homme dans le diabète auto-immun et en phase II en transplantation rénale. Leur bonne tolérance, leur absence de néphrotoxicité, leur spécificité, et leur potentiel pour induire la tolérance par le biais des cellules régulatrices en font des futurs immunosuppresseurs très prometteurs en transplantation d'organes et dans les maladies auto-immunes.

### **Alemtuzumab : anticorps monoclonal humanisé anti-CD52**

L'alemtuzumab (Campath-1H®) est un anticorps monoclonal humanisé dirigé contre CD52, une glycoprotéine ancrée dans la membrane cellulaire par les phosphatidylinositols et principalement exprimée par les lymphocytes T et B, les monocytes macrophages, les cellules *Natural Killer* et les thymocytes. L'alemtuzumab ne semble pas avoir d'effet sur les plasmocytes et semble également épargner les cellules mémoires (Pearl et coll., 2005 ; Magliocca et Knechtle, 2006).

L'alemtuzumab utilisé en traitement d'induction entraîne une déplétion lymphocytaire T et B profonde (> 99 %) et durable (Magliocca et Knechtle, 2006) qui pourrait permettre de diminuer les doses et le nombre des immunosuppresseurs d'entretien en transplantation rénale. C'est R. Calne qui a, le premier, utilisé l'alemtuzumab en induction pour traiter les patients en monothérapie avec de la ciclosporine. Dans son étude pilote, 31 patients recevaient deux doses de 20 mg d'alemtuzumab et de la ciclosporine avec un taux résiduel de 100 à 150 ng/ml (Calne et coll., 1999). À 5 ans, 29 patients avaient encore un greffon fonctionnel et on notait 6 épisodes de rejet aigu (Watson et coll., 2005). Calne a introduit le terme de « *Prope tolerance* » en raison de ces bons résultats obtenus avec de faibles doses de ciclosporine malgré l'absence d'étude montrant un état de tolérance allogénique (Calne et coll., 1999). Cette approche a été utilisée avec le sirolimus (Knechtle et coll., 2003). Les patients (n = 29) recevaient deux doses de 20 mg d'alemtuzumab à J0 et J1 et du sirolimus en monothérapie. Finalement, 28 % des patients ont développé des rejets humoraux précoces, sévères, riches en monocytes et macrophages (Knechtle et coll., 2003). Après 3 ans de suivi, la survie des greffons et des patients était de 96 % et 100 % respectivement, et 57 % des patients étaient traités en monothérapie soit par du sirolimus (13 patients) soit par du tacrolimus (Barth et coll., 2006). Cette étude pilote montrait que l'utilisation de l'alemtuzumab en traitement d'induction, avec du sirolimus en traitement d'entretien, ne permettaient pas d'induire une tolérance, malgré la déplétion lymphocytaire. L'incidence élevée de rejets humoraux précoces montre que l'association alemtuzumab/sirolimus en monothérapie n'est pas souhaitable en début de transplantation.

Le groupe de Pittsburgh a comparé de manière rétrospective un traitement d'induction par thymoglobuline ou alemtuzumab associé à un traitement d'entretien par tacrolimus, dont les doses étaient progressivement réduites,

et les injections espacées. Les données étaient comparées à un groupe historique comprenant plusieurs immunosuppresseurs d'entretien sans induction. L'incidence de rejet aigu était très faible dans le groupe alemtuzumab (1 %) et 74 % des patients sous alemtuzumab restaient en monothérapie par le tacrolimus (Shapiro et coll., 2005). Une étude prospective plus récente et randomisée a comparé un traitement d'induction par alemtuzumab et tacrolimus monothérapie en entretien avec une trithérapie comprenant tacrolimus, stéroïdes et mycophénolate mofétil sans traitement d'induction (Margreiter et coll., 2008). À un an, la survie des patients et des greffons était similaire dans les deux groupes, le taux de rejet aigu de 20 % dans le groupe alemtuzumab et 32 % dans le groupe témoin ( $p = 0,09$ ). Le taux d'infection par le CMV était plus important dans le groupe alemtuzumab.

L'utilisation d'un traitement par alemtuzumab a été proposée pour l'éviction ou l'arrêt très précoce de la corticothérapie, chez des patients recevant du tacrolimus et du mycophénolate mofétil en traitement d'entretien. Les études publiées montrent de bons résultats sur la survie des patients et des greffons et un taux faible de rejet aigu (7 à 13 %) comparables aux résultats obtenus avec un anticorps anti-récepteur de l'IL-2 ou de la thymoglobuline. La majorité de ces études montrent une incidence plus élevée d'infections par le CMV chez les patients recevant de l'alemtuzumab (Ciancio et coll., 2004 et 2005 ; Kaufman et coll., 2005 ; Ortiz et coll., 2008). Les mêmes conclusions sont rapportées chez des patients transplantés avec des greffons provenant de donneurs décédés d'arrêt cardiaque (Schadde et coll., 2008). Cependant, la qualité méthodologique de ces études le plus souvent rétrospectives et les résultats à court terme ne permettent pas de connaître réellement les bénéfices apportés par l'alemtuzumab en traitement d'induction par rapport aux anticorps anti-récepteurs de l'IL-2 ou la thymoglobuline dans cette indication.

Une étude pilote randomisée portant sur 40 patients a évalué l'arrêt des CNI (*calcineurin inhibitors*) après induction par alemtuzumab. À un an de transplantation, la survie des patients et des greffons et la fonction rénale étaient similaires avec ou sans arrêt des CNI. On notait plus de rejet dans le groupe des patients ayant arrêté les CNI (4 cas *versus* 0) mais la majorité des patients restaient sans CNI dans le groupe d'étude. De manière intéressante, le pourcentage de cellules régulatrices CD4+CD25+FoxP3+ était plus élevé jusqu'à 6 mois dans le groupe des patients ayant arrêté les CNI (Pascual et coll., 2008).

En conclusion, les études pilote initiales n'ont pas permis de montrer un effet tolérogène de l'alemtuzumab. Les études rétrospectives portant sur un plus grand nombre de patients ont suggéré que l'utilisation de l'alemtuzumab en traitement d'induction pouvait permettre de réduire le traitement immunosuppresseur d'entretien, mais les études réalisées ne portent pas sur le long terme et il n'y a pas de conclusion claire sur la supériorité de l'alemtuzumab par rapport aux autres traitements d'induction. Cependant, la facilité d'utilisation de l'alemtuzumab, injecté en une à deux doses par voie périphérique,

son coût inférieur à celui de la thymoglobuline en font un traitement d'induction prometteur en transplantation comme le témoignent les résultats d'une étude récente en transplantation rénale et pancréatique (Farney et coll., 2008). Enfin l'alemtuzumab a été utilisé en transplantation hépatique, intestinale et thoracique (Tzakis et coll., 2003 ; Magliocca et Knechtle, 2006) et dans le traitement d'un rejet aigu sévère après transplantation des deux mains (Schneeberger et coll., 2004).

Les bénéfices apportés par l'alemtuzumab devront néanmoins être confirmés par des études prospectives de grande envergure similaires à celles déjà réalisées avec les anticorps anti-récepteurs de l'IL-2.

### **Rituximab : anticorps anti-CD20**

Le rituximab est un anticorps chimérique dirigé contre le CD20. Sa fixation induit l'apoptose des cellules CD20+, ce qui entraîne une déplétion lymphocytaire B profonde et durable. L'injection de rituximab à la dose de 375 mg/m<sup>2</sup> de surface corporelle par voie intraveineuse périphérique chez des patients transplantés entraîne une déplétion quasi complète des lymphocytes B (CD19+) dans le sang périphérique pendant un an et persistant les 3 années suivantes chez 91 % des patients greffés. Cette déplétion débute dès les 3 premiers jours après injection et est maximale après la 3<sup>e</sup> semaine (Genberg et coll., 2007). Cette lymphopénie B n'est pas liée à la persistance de l'anticorps monoclonal dont la demi-vie est de 12 jours dans le sang périphérique (Vieira et coll., 2004). Une injection unique de rituximab permet une réduction significative du nombre de lymphocytes CD19+ dans les ganglions périphériques (Genberg et coll., 2006 et 2007). La déplétion lymphocytaire B est retrouvée fréquemment mais non constamment au niveau du greffon (Lehnhardt et coll., 2006 ; Steinmetz et coll., 2007 ; Thauat et coll., 2008). L'injection de rituximab ne modifie pas la population lymphocytaire T CD3+ et ne touche pas les plasmocytes (Ramos et coll., 2007).

La déplétion lymphocytaire B profonde induite par l'injection du rituximab permet une utilisation pour plusieurs indications : réduction de la masse tumorale dans les lymphomes CD20+, traitement des maladies auto-immunes médiées par les autoanticorps, et enfin, utilisation en transplantation d'organes pour diminuer la synthèse des anticorps anti-HLA et des anticorps naturels anti-A ou anti-B. Nous verrons ci-dessous les principales utilisations du rituximab en transplantation.

#### ***Désensibilisation des patients en attente de transplantation***

Dans une étude pilote réalisée chez 9 patients en hémodialyse, on observait chez 80 % des patients traités par une dose unique de rituximab, une diminution des anticorps anti-HLA. Cette diminution n'était cependant que mineure chez 40 % de ce petit nombre de patients (Vieira et coll., 2004).

Dans une étude prospective portant sur 20 patients hyper-immunisés en hémodialyse inscrits sur la liste d'attente de transplantation, l'association d'IVIg (immunoglobulines polyclonales intraveineuses) à fortes doses et de deux doses de rituximab (1 g à J7 et J22) entraînait une diminution significative du taux d'anticorps anti-HLA (PRA pour *Panel-Reactive Antibody* :  $77 \pm 19$  % avant traitement *versus*  $44 \pm 30$  % après traitement,  $p < 0,001$ ). Parmi les patients ainsi traités, 80 % pouvaient être transplantés avec de très bons résultats à un an (survie des patients 100 %, survie des greffons 94 %, créatininémie moyenne  $133 \pm 97$   $\mu\text{mol/l}$ ). On notait cependant un rejet aigu chez 50 % des patients, dont 31 % de rejet avec présence d'anticorps dans les biopsies. Aucun patient ne développait d'anticorps anti-rituximab (Vo et coll., 2008).

### **Traitement du rejet aigu humoral**

Les rejets humoraux, mieux définis depuis la mise en évidence des dépôts de C4d sur les biopsies, leur meilleure caractérisation histologique et la détermination plus sensible des anticorps anti-HLA circulants, sont des rejets sévères pouvant conduire à la perte du greffon. Le rituximab a été utilisé avec succès dans ces rejets en transplantation cardiaque (Aranda et coll., 2002 ; Kaczmarek et coll., 2007), hépatique (Usuda et coll., 2005), pancréatique (Melcher et coll., 2006) et rénale (Becker et coll., 2004 ; Alausa et coll., 2005 ; Faguer et coll., 2007 ; Steinmetz et coll., 2007). Cependant, les cas rapportés concernent un petit nombre de patients et n'ont pas été contrôlés. Par ailleurs, l'efficacité du rituximab n'est pas constant (Bierl et coll., 2006 ; Wade et coll., 2006).

### **Transplantation ABO incompatible**

Les transplantations incompatibles dans le système des groupes sanguins ABO ont longtemps été réalisées avec un traitement combinant splénectomie, IVIg, immunoabsorption ou plasmaphérèses, en association au traitement immunosuppresseur. L'utilisation du rituximab en association avec les plasmaphérèses, les IVIg, ou l'immunoabsorption permet de se passer de la splénectomie avec une élimination des anticorps naturels et des résultats sur la survie des patients transplantés à moyen terme (3 ans) comparables à ceux obtenus avec des donneurs ABO compatibles (Tyden et coll., 2005 ; Saito et coll., 2006 ; Genberg et coll., 2008).

### **Traitement des lymphomes post-transplantation**

Les syndromes lymphoprolifératifs post-transplantation sont une des principales complications post-transplantation et liés à l'immunosuppression. Le rituximab, déjà utilisé pour le traitement des lymphomes non hodgkiniens chez les patients non transplantés, a été utilisé très tôt dans le traitement des syndromes lymphoprolifératifs chez les patients transplantés cardiaque (Zilz et coll., 2001). Un essai prospectif multicentrique chez les patients transplantés d'organe, avec 4 injections de rituximab de  $375$   $\text{mg/m}^2$  chacune, a

montré un taux de réponse de 44 % à J80, se maintenant chez 67 % des patients la première année (Choquet et coll., 2006). L'efficacité du rituximab est moindre pour les lymphomes tardifs et monoclonaux (Choquet et coll., 2007). Pour ces lymphomes, il est préférable d'associer le rituximab à la chimiothérapie, soit en première intention, soit en cas d'échec du traitement (Elstrom et coll., 2006 ; Lee et coll., 2007).

### ***Traitement des maladies auto-immunes post-greffe***

Le traitement par le rituximab peut être utilisé pour la récurrence des maladies auto-immunes sur le greffon observées après transplantation. Le rituximab peut ainsi être utilisé pour le traitement des récurrences de vascularites<sup>6</sup> à ANCA (*AntiNeutrophil Cytoplasmic Antibody*) (Geetha et coll., 2007) et glomérulonéphrites<sup>7</sup> extra-membraneuses (Gallon et coll., 2006 ; Weclawiak et coll., 2008). Les résultats actuels sont encore très préliminaires et demandent d'être confirmés par des études à plus long terme et à plus grande échelle. Bien que des cas de rémissions de récurrence de hyalinose segmentaire et focale aient été décrits après injection de rituximab (Gossmann et coll., 2007 ; Meyer et coll., 2007), l'efficacité de ce traitement ne semble pas retrouvé constamment dans cette indication (Yabu et coll., 2008). Enfin, le rituximab pourrait être utilisé dans le traitement des cryoglobulinémies associées aux glomérulonéphrites membranoprolifératives chez les patients atteints ou non d'hépatite C (Basse et coll., 2005 ; Bestard et coll., 2006).

### ***Limites dans l'utilisation du rituximab***

Les effets secondaires liés à l'injection sont très faibles chez les patients transplantés : aucun effet secondaire sévère chez 9 patients en hémodialyse (Vieira et coll., 2004). L'effet secondaire le plus fréquent est de la fièvre chez 43 à 85 % des patients. Les effets secondaires sont plus importants chez les patients traités pour des lymphomes, probablement en raison de la lyse tumorale responsable de libération de cytokines, quasi inexistante dans le contexte de traitement de rejet aigu ou de désensibilisation. Enfin, on peut observer l'apparition d'anticorps anti-rituximab, chez 2/9 patients hémodialysés recevant du rituximab pour désensibilisation (Vieira et coll., 2004), sans savoir si ces anticorps bloquent l'efficacité du rituximab.

En conclusion, le rituximab est de plus en plus largement utilisé en transplantation d'organes, avec une efficacité possible pour un grand nombre d'indications. Cependant, en dehors des lymphomes post-transplantation, aucune étude contrôlée n'a été réalisée. Il est donc actuellement impossible

---

6. Les vascularites regroupent plusieurs maladies qui comportent toutes une atteinte inflammatoire de la paroi vasculaire.

7. Une glomérulonéphrite est une affection des glomérules (structures particulières du cortex rénal), le plus souvent mais pas toujours d'origine inflammatoire.

de savoir le poids réel du rituximab dans l'efficacité des protocoles de désensibilisation et de traitement du rejet aigu humoral, par rapport aux plasmaphèreses et aux IVIg. Des études prospectives et randomisées seront nécessaires dans les prochaines années pour apprécier pleinement le rôle du rituximab en transplantation d'organes.

### **Efalizumab : anticorps anti-LFA1**

LFA1 est une molécule d'adhésion impliquée dans la migration leucocytaire, la formation de la synapse immunologique, et pouvant donner un co-signal d'activation. L'efalizumab est un anticorps monoclonal humanisé dirigé contre LFA1, ayant reçu son agrément dans le traitement du psoriasis. L'efficacité et la tolérance de l'efalizumab en transplantation ont été testées dans une étude prospective de phase I/II chez 38 patients transplantés rénaux. Les patients recevaient par ailleurs de la ciclosporine, du mycophénolate mofétil et des corticoïdes. À 6 mois, on notait une survie des patients et des greffons de 97 % et 95 % respectivement, et un taux de rejet aigu prouvé par biopsie de 11 %. À noter que 8 % des patients présentaient un syndrome lymphoprolifératif post-transplantation (Vincenti et coll., 2007). D'autres études chez l'homme sont nécessaires avant l'utilisation de cet immunosuppresseur en transplantation.

### **Autres anticorps monoclonaux**

D'autres anticorps monoclonaux ont été développés et pourraient devenir de futurs immunosuppresseurs. Les anticorps anti-CD2 (antigène des lymphocytes T) ont été utilisés chez le primate (Dehoux et coll., 2000) et dans un protocole d'induction de tolérance chez l'homme (Kawai et coll., 2008). Les anticorps dirigés contre le composant C5 de la cascade d'activation du complément pourraient avoir un intérêt majeur dans le traitement des rejets humoraux (Wang et coll., 2005 ; Rother et coll., 2008). Tous ces anticorps monoclonaux doivent faire la preuve de leur efficacité et de leur bonne tolérance avant une utilisation chez l'homme.

## **Critères d'évaluation pour le développement des nouveaux immunosuppresseurs**

Les années 1990 à 2005 ont été une période faste pour le développement des immunosuppresseurs actuels. Ont été mis sur le marché le tacrolimus, les inhibiteurs de mTOR, les anticorps anti-récepteurs de l'IL-2 et le mycophénolate mofétil. Ces immunosuppresseurs sont utilisés couramment en



transplantation. Pendant toutes ces années, les critères principaux d'efficacité des produits à l'étude étaient l'incidence des rejets aigus, la survie des greffons et des patients, ou des critères composites incluant ces principaux paramètres. Actuellement, avec la diminution de l'incidence du rejet aigu à moins de 15 % chez les patients en première greffe, la très bonne survie des patients et des greffons, d'autres critères sont nécessaires pour le développement des nouveaux immunosuppresseurs.

Il est nécessaire de disposer de critères de substitution (*surrogate markers*) permettant d'évaluer à court terme l'évolution des greffons à long terme (Hariharan et coll., 2004 ; Lachenbruch et coll., 2004). La difficulté provient de la nécessité de valider ces critères de substitution avant leur utilisation dans les études cliniques. Plusieurs critères de substitution peuvent être utilisés : la créatininémie, le rapport 1/créatininémie, la pente d'évolution de la créatininémie au cours de la première année (Hariharan et coll., 2004). On peut aussi utiliser des paramètres histologiques, tels que la quantification de la fibrose interstitielle ou la quantification des lésions vasculaires (Seron et Moreso, 2007 ; Servais et coll., 2007), la transition épithélio-mésenchymateuse (Hertig et coll., 2008). D'autres marqueurs biologiques pourraient être utilisés : biomarqueurs urinaires ou sanguins fondés sur l'évaluation du profil d'expression de gènes par les puces à ADN (Brouard et coll., 2007 ; Anglicheau et Suthanthiran, 2008), anticorps catalytiques (Wootla et coll., 2008), anticorps anti-HLA...

Il est probable que les études cliniques futures utiliseront plusieurs marqueurs différents sous forme de critères composites tant que la validation d'un marqueur principal n'aura pas été réalisée. Enfin, la majorité des études à court terme ne suffisent plus pour valider l'intérêt d'un immunosuppresseur, et la durée des études de développement d'un nouvel immunosuppresseur en phase III devrait être d'au moins 3 ans. Il paraît nécessaire d'inclure dans tout protocole de développement d'un nouvel immunosuppresseur des biopsies systématiques pour détecter les rejets infracliniques ou des signes de toxicité rénale impossibles à prédire en absence d'histologie.

Les effets secondaires des immunosuppresseurs en développement devront être au cœur des critères d'évaluation, et tout particulièrement leur néphrotoxicité, complication majeure de toutes les transplantations d'organe.

Enfin, les nouveaux protocoles devront s'intéresser aux populations à risques, patients hyper-immunisés, patients âgés, patients diabétiques, patients infectés chroniquement par des virus (hépatites B, C, virus HIV) qui sont souvent exclus des études cliniques prospectives.

**En conclusion**, le développement de nouveaux immunosuppresseurs reste nécessaire en transplantation d'organes. Bien que les résultats actuels soient très bons à court terme, et bons à long terme, la durée de vie des greffons n'a pas beaucoup augmenté ces dernières années.

Des médicaments non néphrotoxiques, bien tolérés au long terme, avec des propriétés anti-tumorales, et pouvant induire la tolérance, ou ne pas l'inhiber sont nécessaires. Les expériences récentes (FTY 720, FK 778) montrent que le chemin est long et incertain depuis des données prometteuses dans les modèles animaux jusqu'à l'autorisation de mise sur le marché. Les critères de tolérance aux médicaments prendront de plus en plus de place dans l'évaluation des nouveaux immunosuppresseurs. Ne seront promus que les produits apportant une avancée importante (induction de tolérance par exemple) ou ceux dont la tolérance clinique est remarquable. Le belatacept et les anticorps anti-CD3 humanisés non mitogéniques pourraient faire partie de cette dernière catégorie.

## BIBLIOGRAPHIE

ABRAMS JR, LEBWOHL MG, GUZZO CA, JEGASOTHY BV, GOLDFARB MT, et coll. CTLA4Ig-mediated blockade of T-cell costimulation in patients with psoriasis vulgaris. *J Clin Invest* 1999, **103** : 1243-1252

ALAUSSA M, ALMAGRO U, SIDDIQI N, ZUIDERWEG R, MEDIPALLI R, HARIHARAN S. Refractory acute kidney transplant rejection with CD20 graft infiltrates and successful therapy with rituximab. *Clin Transplant* 2005, **19** : 137-140

ALEGRE ML, FRAUWIRTH KA, THOMPSON CB. T-cell regulation by CD28 and CTLA-4. *Nat Rev Immunol* 2001, **1** : 220-228

ANDRE P, PRASAD KS, DENIS CV, HE M, PAPALIA JM, et coll. CD40L stabilizes arterial thrombi by a beta3 integrin--dependent mechanism. *Nat Med* 2002, **8** : 247-252

ANGLADE E, YATSCOFF R, FOSTER R, GRAU U. Next-generation calcineurin inhibitors for ophthalmic indications. *Expert Opin Investig Drugs* 2007, **16** : 1525-1540

ANGLICHEAU D, SUTHANTHIRAN M. Noninvasive prediction of organ graft rejection and outcome using gene expression patterns. *Transplantation* 2008, **86** : 192-199

ANONYME. ISA 247: trans-ISA 247, trans-R 1524, ISA(TX)247, ISAtx 247, ISATx247, LX 211, LX211, R 1524, R-1524. *Drugs R D* 2007, **8** : 103-112

ARANDA JM, JR., SCORNIK JC, NORMANN SJ, LOTTENBERG R, SCHOFIELD RS, et coll. Anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) therapy for acute cardiac humoral rejection: a case report. *Transplantation* 2002, **73** : 907-910

BARTH RN, JANUS CA, LILLESAND CA, RADKE NA, PIRSCH JD, et coll. Outcomes at 3 years of a prospective pilot study of Campath-1H and sirolimus immunosuppression for renal transplantation. *Transpl Int* 2006, **19** : 885-892

BASSE G, RIBES D, KAMAR N, MEHRENBARGER M, ESPOSITO L, et coll. Rituximab therapy for de novo mixed cryoglobulinemia in renal transplant patients. *Transplantation* 2005, **80** : 1560-1564

BECKER YT, BECKER BN, PIRSCH JD, SOLLINGER HW. Rituximab as treatment for refractory kidney transplant rejection. *Am J Transplant* 2004, **4** : 996-1001

BELGHITH M, BLUESTONE JA, BARRIOT S, MEGRET J, BACH JF, CHATENOU L. TGF-beta-dependent mechanisms mediate restoration of self-tolerance induced by antibodies to CD3 in overt autoimmune diabetes. *Nat Med* 2003, **9** : 1202-1208

BESTARD O, CRUZADO JM, ERCILLA G, GOMA M, TORRAS J, et coll. Rituximab induces regression of hepatitis C virus-related membranoproliferative glomerulonephritis in a renal allograft. *Nephrol Dial Transplant* 2006, **21** : 2320-2324

BIERL C, MILLER B, PRAK EL, GASIEWSKI A, KEARNS J, et coll. Antibody-mediated rejection in heart transplant recipients: potential efficacy of B-cell depletion and antibody removal. *Clin Transpl* 2006, 489-496

BISIKIRSKA B, COLGAN J, LUBAN J, BLUESTONE JA, HEROLD KC. TCR stimulation with modified anti-CD3 mAb expands CD8+ T cell population and induces CD8+CD25+ Tregs. *J Clin Invest* 2005, **115** : 2904-2913

BORIE DC, SI MS, MORRIS RE, REITZ BA, CHANGELIAN PS. JAK3 inhibition as a new concept for immune suppression. *Curr Opin Investig Drugs* 2003, **4** : 1297-1303

BORIE DC, LARSON MJ, FLORES MG, CAMPBELL A, ROUSVOAL G, et coll. Combined use of the JAK3 inhibitor CP-690,550 with mycophenolate mofetil to prevent kidney allograft rejection in nonhuman primates. *Transplantation* 2005, **80** : 1756-1764

BROUARD S, MANSFIELD E, BRAUD C, LI L, GIRAL M, et coll. Identification of a peripheral blood transcriptional biomarker panel associated with operational renal allograft tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007, **104** : 15448-15453

CALNE R, MOFFATT SD, FRIEND PJ, JAMIESON NV, BRADLEY JA, et coll. Campath-1H allows low-dose cyclosporine monotherapy in 31 cadaveric renal allograft recipients. *Transplantation* 1999, **68** : 1613-1616

CHATENOU L. Anti-CD3 antibodies: towards clinical antigen-specific immunomodulation. *Curr Opin Pharmacol* 2004, **4** : 403-407

CHATENOU L. CD3-specific antibodies restore self-tolerance: mechanisms and clinical applications. *Curr Opin Immunol* 2005, **17** : 632-637

CHATENOU L. CD3-specific antibodies as promising tools to aim at immune tolerance in the clinic. *Int Rev Immunol* 2006, **25** : 215-233

CHATENOU L, BLUESTONE JA. CD3-specific antibodies: a portal to the treatment of autoimmunity. *Nat Rev Immunol* 2007, **7** : 622-632

CHAVEZ H, BEAUDREUIL S, ABBED K, TAOUFIC Y, KRIAA F, et coll. Absence of CD4CD25 regulatory T cell expansion in renal transplanted patients treated in vivo with Belatacept mediated CD28-CD80/86 blockade. *Transpl Immunol* 2007, **17** : 243-248

CHOQUET S, LEBLOND V, HERBRECHT R, SOCIE G, STOPPA AM, et coll. Efficacy and safety of rituximab in B-cell post-transplantation lymphoproliferative disorders: results of a prospective multicenter phase 2 study. *Blood* 2006, **107** : 3053-3057

CHOQUET S, OERTEL S, LEBLOND V, RIESS H, VAROQUEAUX N, et coll. Rituximab in the management of post-transplantation lymphoproliferative disorder after solid organ transplantation: proceed with caution. *Ann Hematol* 2007, **86** : 599-607

CIANCIO G, BURKE GW, GAYNOR JJ, MATTIAZZI A, ROOHIPOUR R, et coll. The use of Campath-1H as induction therapy in renal transplantation: preliminary results. *Transplantation* 2004, **78** : 426-433

CIANCIO G, BURKE GW, GAYNOR JJ, CARRENO MR, CIROCCO RE, et coll. A randomized trial of three renal transplant induction antibodies: early comparison of tacrolimus, mycophenolate mofetil, and steroid dosing, and newer immune-monitoring. *Transplantation* 2005, **80** : 457-465

DEHOUX JP, TALPE S, DEWOLF N, OTSUKA M, OIKE F, et coll. Effects on human and nonhuman primate immune response of a new rat anti-CD2 monoclonal antibody. *Transplantation* 2000, **69** : 2622-2633

DEUSE T, VELOTTA JB, HOYT G, GOVAERT JA, TAYLOR V, et coll. Novel immunosuppression: R348, a JAK3- and Syk-inhibitor attenuates acute cardiac allograft rejection. *Transplantation* 2008, **85** : 885-892

DUMONT FJ. ISAtx-247 (Isotechnika/Roche). *Curr Opin Investig Drugs* 2004, **5** : 542-550

ELSTROM RL, ANDREADIS C, AQUI NA, AHYA VN, BLOOM RD, et coll. Treatment of PTLN with rituximab or chemotherapy. *Am J Transplant* 2006, **6** : 569-576

FAGUER S, KAMAR N, GUILBEAUD-FRUGIER C, FORT M, MODESTO A, et coll. Rituximab therapy for acute humoral rejection after kidney transplantation. *Transplantation* 2007, **83** : 1277-1280

FARNEY A, SUNDBERG A, MOORE P, HARTMANN E, ROGERS J, et coll. A randomized trial of alemtuzumab vs. anti-thymocyte globulin induction in renal and pancreas transplantation. *Clin Transplant* 2008, **22** : 41-49

FERRAN C, BACH JF, CHATENOU L. In vivo T cell activation properties of anti-T cell monoclonal antibodies. *Exp Nephrol* 1993, **1** : 83-89

FRIEND PJ, HALE G, CHATENOU L, REBELLO P, BRADLEY J, et coll. Phase I study of an engineered aglycosylated humanized CD3 antibody in renal transplant rejection. *Transplantation* 1999, **68** : 1632-1637

GALLON L, CHHABRA D. Anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) for the treatment of recurrent idiopathic membranous nephropathy in a renal transplant patient. *Am J Transplant* 2006, **6** : 3017-3021

GEETHA D, SEO P, SPECKS U, FERVENZA FC. Successful induction of remission with rituximab for relapse of ANCA-associated vasculitis post-kidney transplant: report of two cases. *Am J Transplant* 2007, **7** : 2821-2825

GENBERG H, HANSSON A, WERNERSON A, WENNBERG L, TYDEN G. Pharmacodynamics of rituximab in kidney allotransplantation. *Am J Transplant* 2006, **6** : 2418-2428

GENBERG H, HANSSON A, WERNERSON A, WENNBERG L, TYDEN G. Pharmacodynamics of rituximab in kidney transplantation. *Transplantation* 2007, **84** (Suppl 12) : S33-S36

GENBERG H, KUMLIEN G, WENNBERG L, BERG U, TYDEN G. ABO-incompatible kidney transplantation using antigen-specific immunoadsorption and rituximab: a 3-year follow-up. *Transplantation* 2008, **85** : 1745-1754

GOSSMANN J, SCHEUERMANN EH, PORUBSKY S, KACHEL HG, GEIGER H, HAUSER IA. Abrogation of nephrotic proteinuria by rituximab treatment in a renal transplant patient with relapsed focal segmental glomerulosclerosis. *Transpl Int* 2007, **20** : 558-562

GUILLOMNEAU C, HILL M, HUBERT FX, CHIFFOLEAU E, HERVE C, et coll. CD40Ig treatment results in allograft acceptance mediated by CD8CD45RC T cells, IFN-gamma, and indoleamine 2,3-dioxygenase. *J Clin Invest* 2007, **117** : 1096-1106

HAANSTRA KG, RINGERS J, SICK EA, RAMDIEN-MURLI S, KUHN EM, et coll. Prevention of kidney allograft rejection using anti-CD40 and anti-CD86 in primates. *Transplantation* 2003, **75** : 637-643

HAANSTRA KG, SICK EA, RINGERS J, WUBBEN JA, KUHN EM, et coll. Costimulation blockade followed by a 12-week period of cyclosporine A facilitates prolonged drug-free survival of rhesus monkey kidney allografts. *Transplantation* 2005, **79** : 1623-1626

HALLORAN PF. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med* 2004, **351** : 2715-2729

HANCOCK WW, SAYEGH MH, ZHENG XG, PEACH R, LINSLEY PS, TURKA LA. Costimulatory function and expression of CD40 ligand, CD80, and CD86 in vascularized murine cardiac allograft rejection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996, **93** : 13967-13972

HARIHARAN S, KASISKE B, MATAS A, COHEN A, HARMON W, RABB H. Surrogate markers for long-term renal allograft survival. *Am J Transplant* 2004, **4** : 1179-1183

HASPOT F, SEVENO C, DUGAST AS, COULON F, RENAUDIN K, et coll. Anti-CD28 antibody-induced kidney allograft tolerance related to tryptophan degradation and TCR class II B7 regulatory cells. *Am J Transplant* 2005, **5** : 2339-2348

HAUSEN B, KLUPP J, CHRISTIANS U, HIGGINS JP, BAUMGARTNER RE, et coll. Coadministration of either cyclosporine or steroids with humanized monoclonal antibodies against CD80 and CD86 successfully prolong allograft survival after life supporting renal transplantation in cynomolgus monkeys. *Transplantation* 2001, **72** : 1128-1137

HERING BJ, KANDASWAMY R, HARMON JV, ANSITE JD, CLEMMINGS SM, et coll. Transplantation of cultured islets from two-layer preserved pancreases in type 1 diabetes with anti-CD3 antibody. *Am J Transplant* 2004, **4** : 390-401

HEROLD KC, HAGOPIAN W, AUGER JA, POUMIAN RUIZ E, TAYLOR L, et coll. Anti-CD3 monoclonal antibody in new-onset type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2002, **346** : 1692-1698

HEROLD KC, GITELMAN SE, MASHARANI U, HAGOPIAN W, BISIKIRSKA B, et coll. A single course of anti-CD3 monoclonal antibody hOKT3gamma1(Ala-Ala) results in improvement in C-peptide responses and clinical parameters for at least 2 years after onset of type 1 diabetes. *Diabetes* 2005, **54** : 1763-1769

HERTIG A, ANGLICHEAU D, VERINE J, PALLET N, TOUZOT M, et coll. Early epithelial phenotypic changes predict graft fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2008, **19** : 1584-1591

HORGA A, MONTALBAN X. FTY720 (fingolimod) for relapsing multiple sclerosis. *Expert Rev Neurother* 2008, **8** : 699-714

IMAI A, SUZUKI T, SUGITANI A, ITOH T, UEKI S, et coll. A novel fully human anti-CD40 monoclonal antibody, 4D11, for kidney transplantation in cynomolgus monkeys. *Transplantation* 2007, **84** : 1020-1028

JUDGE TA, TANG A, TURKA LA. Immunosuppression through blockade of CD28:B7-mediated costimulatory signals. *Immunol Res* 1996, **15** : 38-49

KACZMAREK I, DEUTSCH MA, SADONI S, BRENNER P, SCHMAUSS D, et coll. Successful management of antibody-mediated cardiac allograft rejection with combined immunoadsorption and anti-CD20 monoclonal antibody treatment: case report and literature review. *J Heart Lung Transplant* 2007, **26** : 511-515

KAUFMAN DB, LEVENTHAL JR, AXELROD D, GALLON LG, PARKER MA, STUART FP. Alemtuzumab induction and prednisone-free maintenance immunotherapy in kidney transplantation: comparison with basiliximab induction--long-term results. *Am J Transplant* 2005, **5** : 2539-2548

KAWAI T, COSIMI AB, SPITZER TR, TOLKOFF-RUBIN N, SUTHANTHIRAN M, et coll. HLA-mismatched renal transplantation without maintenance immunosuppression. *N Engl J Med* 2008, **358** : 353-361

KEYMEULEN B, VANDEMEULEBROUCKE E, ZIEGLER AG, MATHIEU C, KAUFMAN L, et coll. Insulin needs after CD3-antibody therapy in new-onset type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2005, **352** : 2598-2608

KIRK AD, BURKLY LC, BATTY DS, BAUMGARTNER RE, BERNING JD, et coll. Treatment with humanized monoclonal antibody against CD154 prevents acute renal allograft rejection in nonhuman primates. *Nat Med* 1999, **5** : 686-693

KIRK AD, TADAKI DK, CELNIKER A, BATTY DS, BERNING JD, et coll. Induction therapy with monoclonal antibodies specific for CD80 and CD86 delays the onset of acute renal allograft rejection in non-human primates. *Transplantation* 2001, **72** : 377-384

KNECHTLE SJ, PIRSCH JD, H. FECHNER J J, BECKER BN, FRIEDL A, et coll. Campath-1H induction plus rapamycin monotherapy for renal transplantation: results of a pilot study. *Am J Transplant* 2003, **3** : 722-730

KUDLACZ E, PERRY B, SAWYER P, CONKLYN M, MCCURDY S, et coll. The novel JAK-3 inhibitor CP-690550 is a potent immunosuppressive agent in various murine models. *Am J Transplant* 2004, **4** : 51-57

LACHENBRUCH PA, ROSENBERG AS, BONVINI E, CAVAILLE-COLL MW, COLVIN RB. Biomarkers and surrogate endpoints in renal transplantation: present status and considerations for clinical trial design. *Am J Transplant* 2004, **4** : 451-457

LARSEN CP, ELWOOD ET, ALEXANDER DZ, RITCHIE SC, HENDRIX R, et coll. Long-term acceptance of skin and cardiac allografts after blocking CD40 and CD28 pathways. *Nature* 1996, **381** : 434-438

LARSEN CP, PEARSON TC, ADAMS AB, TSO P, SHIRASUGI N, et coll. Rational development of LEA29Y (belatacept), a high-affinity variant of CTLA4-Ig with potent immunosuppressive properties. *Am J Transplant* 2005, **5** : 443-453

LASKOWSKI IA, PRATSCHKE J, WILHELM MJ, DONG VM, BEATO F, et coll. Anti-CD28 monoclonal antibody therapy prevents chronic rejection of renal allografts in rats. *J Am Soc Nephrol* 2002, **13** : 519-527

LEE JJ, LAM MS, ROSENBERG A. Role of chemotherapy and rituximab for treatment of posttransplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplantation. *Ann Pharmacother* 2007, **41** : 1648-1659

LEGENDRE C, KREIS H, BACH JF, CHATENOUD L. Prediction of successful allograft rejection retreatment with OKT3. *Transplantation* 1992, **53** : 87-90

LEHNHARDT A, MENGEL M, PAPE L, EHRICH JH, OFFNER G, STREHLAU J. Nodular B-cell aggregates associated with treatment refractory renal transplant rejection resolved by rituximab. *Am J Transplant* 2006, **6** : 847-851

LINSLEY PS, GREENE JL, TAN P, BRADSHAW J, LEDBETTER JA, et coll. Coexpression and functional cooperation of CTLA-4 and CD28 on activated T lymphocytes. *J Exp Med* 1992, **176** : 1595-1604

LINSLEY PS, BRADSHAW J, URNES M, GROSMARE L, LEDBETTER JA. CD28 engagement by B7/BB-1 induces transient down-regulation of CD28 synthesis and prolonged unresponsiveness to CD28 signaling. *J Immunol* 1993, **150** : 3161-3169

MAGLIOCCA JF, KNECHTLE SJ. The evolving role of alemtuzumab (Campath-1H) for immunosuppressive therapy in organ transplantation. *Transpl Int* 2006, **19** : 705-714

MARGREITER R, KLEMPNAUER J, NEUHAUS P, MUEHLBACHER F, BOESMUELLER C, CALNE RY. Alemtuzumab (Campath-1H) and tacrolimus monotherapy after renal transplantation: results of a prospective randomized trial. *Am J Transplant* 2008, **8** : 1480-1485

MELCHER ML, OLSON JL, BAXTER-LOWE LA, STOCK PG, POSSELT AM. Antibody-mediated rejection of a pancreas allograft. *Am J Transplant* 2006, **6** : 423-428

MENG L, WU Z, WANG Y, LASSMAN C, BUSUTTIL RW, et coll. Differential impact of CD154 costimulation blockade on alloreactive effector and regulatory T cells in murine renal transplant recipients. *Transplantation* 2008, **85** : 1332-1338

MEYER TN, THAISS F, STAHL RA. Immunoabsorption and rituximab therapy in a second living-related kidney transplant patient with recurrent focal segmental glomerulosclerosis. *Transpl Int* 2007, **20** : 1066-1071

NAGAOKA Y, OTSUKI K, FUJITA T, UESATO S. Effects of phosphorylation of immunomodulatory agent FTY720 (fingolimod) on antiproliferative activity against breast and colon cancer cells. *Biol Pharm Bull* 2008, **31** : 1177-1181

OJO AO, HELD PJ, PORT FK, WOLFE RA, LEICHTMAN AB, et coll. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. *N Engl J Med* 2003, **349** : 931-940

ORTIZ J, PALMA-VARGAS J, WRIGHT F, BINGAMAN A, AGHA I, et coll. Campath induction for kidney transplantation: report of 297 cases. *Transplantation* 2008, **85** : 1550-1556

OSTOR AJ. Abatacept: a T-cell co-stimulation modulator for the treatment of rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2008, **27** : 1343-1353

PASCUAL J, BLOOM D, TORREALBA J, BRAHMBHATT R, CHANG Z, et coll. Calcineurin inhibitor withdrawal after renal transplantation with alemtuzumab: clinical outcomes and effect on T-regulatory cells. *Am J Transplant* 2008, **8** : 1529-1536

PEARL JP, PARRIS J, HALE DA, HOFFMANN SC, BERNSTEIN WB, et coll. Immunocompetent T-cells with a memory-like phenotype are the dominant cell type following antibody-mediated T-cell depletion. *Am J Transplant* 2005, **5** : 465-474

PEARL JP, XU H, LEOPARDI F, PRESTON E, KIRK AD. CD154 blockade, sirolimus, and donor-specific transfusion prevents renal allograft rejection in cynomolgus monkeys despite homeostatic T-cell activation. *Transplantation* 2007, **83** : 1219-1225

PRESTON EH, XU H, DHANIREDDY KK, PEARL JP, LEOPARDI FV, et coll. IDEC-131 (anti-CD154), sirolimus and donor-specific transfusion facilitate operational tolerance in non-human primates. *Am J Transplant* 2005, **5** : 1032-1041

RAMOS EJ, POLLINGER HS, STEGALL MD, GLOOR JM, DOGAN A, GRANDE JP. The effect of desensitization protocols on human splenic B-cell populations in vivo. *Am J Transplant* 2007, **7** : 402-407

ROTHER RP, ARP J, JIANG J, GE W, FAAS SJ, et coll. C5 blockade with conventional immunosuppression induces long-term graft survival in presensitized recipients. *Am J Transplant* 2008, **8** : 1129-1142

SAITO K, NAKAGAWA Y, SUWA M, KUMAGAI N, TANIKAWA T, et coll. Pinpoint targeted immunosuppression: anti-CD20/MMF desensitization with anti-CD25 in successful ABO-incompatible kidney transplantation without splenectomy. *Xenotransplantation* 2006, **13** : 111-117

SALVADORI M, BUDDE K, CHARPENTIER B, KLEMPNAUER J, NASHAN B, et coll. FTY720 versus MMF with cyclosporine in de novo renal transplantation: a 1-year, randomized controlled trial in Europe and Australasia. *Am J Transplant* 2006, **6** : 2912-2921

SCHADDE E, D'ALESSANDRO AM, KNECHTLE SJ, ODORICO J, BECKER Y, et coll. Alemtuzumab induction and triple maintenance immunotherapy in kidney transplantation from donors after cardiac death. *Transpl Int* 2008, **21** : 625-636

SCHNEEBERGER S, KRECZY A, BRANDACHER G, STEURER W, MARGREITER R. Steroid- and ATG-resistant rejection after double forearm transplantation responds to Campath-1H. *Am J Transplant* 2004, **4** : 1372-1374

SERON D, MORESO F. Protocol biopsies in renal transplantation: prognostic value of structural monitoring. *Kidney Int* 2007, **72** : 690-697

SERVAIS A, MEAS-YEDID V, BUCHLER M, MORELON E, OLIVO-MARIN JC, et coll. Quantification of interstitial fibrosis by image analysis on routine renal biopsy in patients receiving cyclosporine. *Transplantation* 2007, **84** : 1595-1601

SHAPIRO R, BASU A, TAN H, GRAY E, KAHN A, et coll. Kidney transplantation under minimal immunosuppression after pretransplant lymphoid depletion with Thymoglobulin or Campath. *J Am Coll Surg* 2005, **200** : 505-515; quiz A59-61

SKVARA H, DAWID M, KLEYN E, WOLFF B, MEINGASSNER JG, et coll. The PKC inhibitor AEB071 may be a therapeutic option for psoriasis. *J Clin Invest* 2008, **118** : 3151-3159



STEINMETZ OM, LANGE-HUSKEN F, TURNER JE, VERNAUER A, HELMCHEN U, et coll. Rituximab removes intrarenal B cell clusters in patients with renal vascular allograft rejection. *Transplantation* 2007, **84** : 842-850

STEPKOWSKI SM, KIRKEN RA. Janus tyrosine kinases and signal transducers and activators of transcription regulate critical functions of T cells in allograft rejection and transplantation tolerance. *Transplantation* 2006, **82** : 295-303

SUNTHARALINGAM G, PERRY MR, WARD S, BRETT SJ, CASTELLO-CORTES A, et coll. Cytokine storm in a phase 1 trial of the anti-CD28 monoclonal antibody TGN1412. *N Engl J Med* 2006, **355** : 1018-1028

TAN SL, PARKER PJ. Emerging and diverse roles of protein kinase C in immune cell signalling. *Biochem J* 2003, **376** : 545-552

TEDESCO-SILVA H JR., PINHEIRO MACHADO P, ROSSO FELIPE C, MEDINA PESTANA JO. Immunotherapy for de novo renal transplantation: what's in the pipeline? *Drugs* 2006a, **66** : 1665-1684

TEDESCO-SILVA H, PESCOVITZ MD, CIBRIK D, REES MA, MULGAONKAR S, et coll. Randomized controlled trial of FTY720 versus MMF in de novo renal transplantation. *Transplantation* 2006b, **82** : 1689-1697

THAUNAT O, PATEY N, GAUTREAU C, LECHATON S, FREMEAUX-BACCHI V, et coll. B cell survival in intragraft tertiary lymphoid organs after rituximab therapy. *Transplantation* 2008, **85** : 1648-1653

TYDEN G, KUMLIEN G, GENBERG H, SANDBERG J, LUNDGREN T, FEHRMAN I. ABO incompatible kidney transplantations without splenectomy, using antigen-specific immunoadsorption and rituximab. *Am J Transplant* 2005, **5** : 145-148

TZAKIS AG, KATO T, NISHIDA S, LEVI DM, TRYPHONOPOULOS P, et coll. Alemtuzumab (Campath-1H) combined with tacrolimus in intestinal and multivisceral transplantation. *Transplantation* 2003, **75** : 1512-1517

USUDA M, FUJIMORI K, KOYAMADA N, FUKUMORI T, SEKIGUCHI S, et coll. Successful use of anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) for ABO-incompatible living-related liver transplantation. *Transplantation* 2005, **79** : 12-16

UTSET TO, AUGER JA, PEACE D, ZIVIN RA, XU D, et coll. Modified anti-CD3 therapy in psoriatic arthritis: a phase I/II clinical trial. *J Rheumatol* 2002, **29** : 1907-1913

VAN MEETEREN LA, BRINKMANN V, SAULNIER-BLACHE JS, LYNCH KR, MOOLENAAR WH. Anticancer activity of FTY720: phosphorylated FTY720 inhibits autotaxin, a metastasis-enhancing and angiogenic lysophospholipase D. *Cancer Lett* 2008, **266** : 203-208

VIEIRA CA, AGARWAL A, BOOK BK, SIDNER RA, BEARDEN CM, et coll. Rituximab for reduction of anti-HLA antibodies in patients awaiting renal transplantation: 1. Safety, pharmacodynamics, and pharmacokinetics. *Transplantation* 2004, **77** : 542-548

VINCENTI F. What's in the pipeline? New immunosuppressive drugs in transplantation. *Am J Transplant* 2002, **2** : 898-903

VINCENTI F. Costimulation blockade in autoimmunity and transplantation. *J Allergy Clin Immunol* 2008, **121** : 299-306; quiz 7-8

VINCENTI F, LUGGEN M. T cell costimulation: a rational target in the therapeutic armamentarium for autoimmune diseases and transplantation. *Annu Rev Med* 2007, **58** : 347-358

VINCENTI F, LARSEN C, DURRBACH A, WEKERLE T, NASHAN B, et coll. Costimulation blockade with belatacept in renal transplantation. *N Engl J Med* 2005, **353** : 770-781

VINCENTI F, MENDEZ R, PESCOVITZ M, RAJAGOPALAN PR, WILKINSON AH, et coll. A phase I/II randomized open-label multicenter trial of efalizumab, a humanized anti-CD11a, anti-LFA-1 in renal transplantation. *Am J Transplant* 2007, **7** : 1770-1777

VO AA, LUKOVSKY M, TOYODA M, WANG J, REINSMOEN NL, et coll. Rituximab and intravenous immune globulin for desensitization during renal transplantation. *N Engl J Med* 2008, **359** : 242-251

WADE E, GORAL S, KEARNS J, PIERCE E, TROFE J, et coll. Experience with antibody-mediated rejection in kidney allograft recipients. *Clin Transpl* 2006, 439-446

WANG H, JIANG J, LIU W, KUBELIK D, CHEN G, et coll. Prevention of acute vascular rejection by a functionally blocking anti-C5 monoclonal antibody combined with cyclosporine. *Transplantation* 2005, **79** : 1121-1127

WATSON CJ, BRADLEY JA, FRIEND PJ, FIRTH J, TAYLOR CJ, et coll. Alemtuzumab (Campath-1H) induction therapy in cadaveric kidney transplantation--efficacy and safety at five years. *Am J Transplant* 2005, **5** : 1347-1353

WECLAWIAK H, RIBES D, GUILBEAU-FRUGIER C, TOUCHARD G, KAMAR N, et coll. Relapse of membranous glomerulopathy after kidney transplantation: sustained remittance induced by rituximab. *Clin Nephrol* 2008, **69** : 373-376

WOODLE ES, XU D, ZIVIN RA, AUGER J, CHARETTE J, et coll. Phase I trial of a humanized, Fc receptor nonbinding OKT3 antibody, huOKT3gamma1(Ala-Ala) in the treatment of acute renal allograft rejection. *Transplantation* 1999, **68** : 608-616

WOOTLA B, NICOLETTI A, PATEY N, DIMITROV JD, LEGENDRE C, et coll. Hydrolysis of coagulation factors by circulating IgG is associated with a reduced risk for chronic allograft nephropathy in renal transplanted patients. *J Immunol* 2008, **180** : 8455-8460

YABU JM, VINCENTI F. Novel immunosuppression: small molecules and biologics. *Semin Nephrol* 2007, **27** : 479-486

YABU JM, HO B, SCANDLING JD, VINCENTI F. Rituximab failed to improve nephrotic syndrome in renal transplant patients with recurrent focal segmental glomerulosclerosis. *Am J Transplant* 2008, **8** : 222-227

YOPP AC, LEDGERWOOD LG, OCHANDO JC, BROMBERG JS. Sphingosine 1-phosphate receptor modulators: a new class of immunosuppressants. *Clin Transplant* 2006, **20** : 788-795

YOU S, LEFORBAN B, GARCIA C, BACH JF, BLUESTONE JA, CHATENOU L. Adaptive TGF-beta-dependent regulatory T cells control autoimmune diabetes and are a privileged target of anti-CD3 antibody treatment. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007, **104** : 6335-6340

ZHANG Q, CHEN Y, FAIRCHILD RL, HEEGER PS, VALUJSKIKH A. Lymphoid sequestration of alloreactive memory CD4 T cells promotes cardiac allograft survival. *J Immunol* 2006, **176** : 770-777

ZILZ ND, OLSON LJ, MCGREGOR CG. Treatment of post-transplant lymphoproliferative disorder with monoclonal CD20 antibody (rituximab) after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2001, **20** : 770-772

# III

## **P**réservation et reperfusion de l'organe greffé



## 7

## Syndrome d'ischémie/reperfusion et préservation en transplantation rénale

En transplantation rénale, seulement un tiers des patients inscrits sur liste d'attente sont greffés chaque année. Ce constat amène à rechercher de nouvelles sources de greffons pour tenter de remédier à cette pénurie. Le prélèvement des organes provenant des donneurs à cœur arrêté est une piste actuellement suivie par plusieurs équipes. Ces considérations amènent à repenser les moyens de conservation et leur pertinence pour ce genre de donneurs. Actuellement, les reins provenant de donneurs en état de mort encéphalique sont soumis obligatoirement à une période de conservation à 4°C (ischémie froide) en attendant d'être attribués à un receveur compatible, puis transplantés.

Tous les organes en transplantation sont exposés aux lésions du syndrome d'ischémie/reperfusion. Ce syndrome regroupe actuellement un ensemble de processus physiopathologiques responsable de lésions au niveau du greffon. Ces lésions sont liées à l'hypothermie *per se* et à l'hypoxie contemporaines de la conservation, mais également au réchauffement associé à la réoxygénation de l'organe au cours de la reperfusion (Rauen et de Groot, 2004 et figure 7.1).

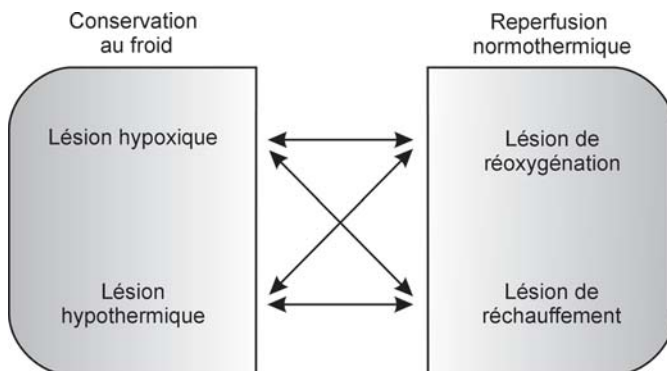


Figure 7.1 : Origine des lésions d'ischémie/reperfusion du greffon

En réalité, l'ischémie/reperfusion (I/R) s'intègre dans un processus plus large incluant les lésions de l'organe associées à la phase de réanimation du donneur, à la mort encéphalique, aux difficultés du prélèvement et aux conditions de la transplantation chez le receveur, ainsi que les lésions cérébrales. Il faut également ajouter les facteurs de risque du receveur qui peuvent contribuer au développement des lésions du greffon (Pratschke et coll., 2004 ; Bos et coll., 2007 ; tableau 7.1).

**Tableau 7.1 : Principales étapes pouvant influencer le développement de lésions au niveau du greffon**

Étape	Facteur
Donneur	Causes de la mort Morbidités associées (hypertension artérielle, dyslipidémie...) Traitements utilisés Mort encéphalique
Phase de réanimation	Instabilité hémodynamique Problèmes d'oxygénation adaptée Orage végétatif Administration de vasoconstricteurs
Prélèvement Conservation	Difficultés techniques Saignement Refroidissement difficile Conservation de mauvaise qualité Durée d'ischémie froide prolongée
Reperfusion Devenir à long terme	Durée d'anastomose Facteurs immunologiques Traitement immunosuppresseur

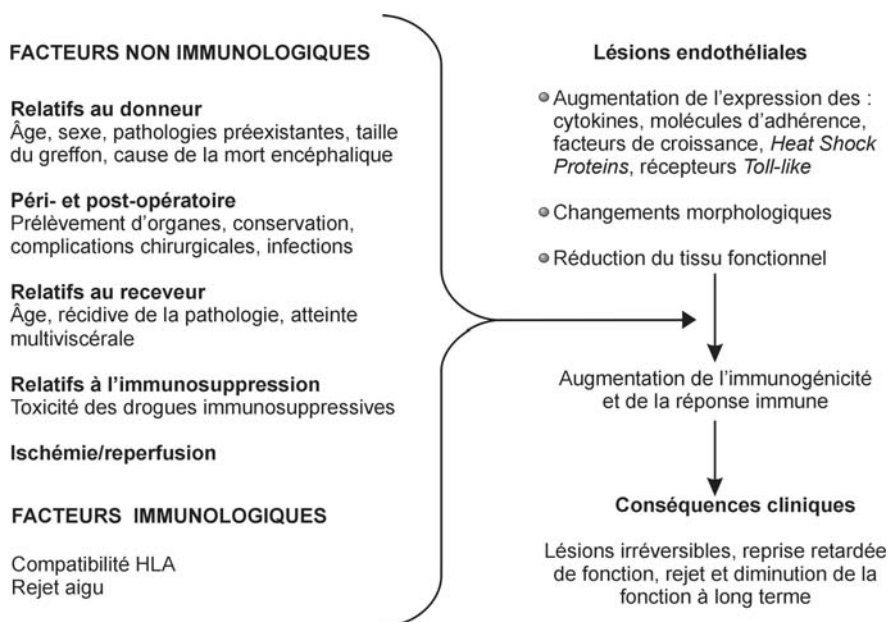
## Impacts de l'ischémie/reperfusion sur la survie du greffon et conséquences cliniques

L'I/R est un des facteurs majeurs à l'origine de la reprise retardée de fonction qui entraîne un surcoût de la transplantation par l'hospitalisation prolongée et la nécessité de recourir à des séances de dialyse, et surtout un risque accru de rejet aigu et une réduction de la survie des greffons à long terme. La fréquence des reprises retardées de fonction varie entre 2 et 50 % en fonction des équipes, du type de donneur, de la durée de conservation et des difficultés techniques (Perico et coll., 2004). Dans le contexte actuel de manque d'organes, les lésions d'I/R sont prépondérantes avec des facteurs favorisants comme l'âge du donneur supérieur à 60 ans, une ischémie froide<sup>8</sup>

---

8. L'ischémie froide correspond au délai qui s'écoule entre le clampage définitif de l'aorte chez le donneur au moment du prélèvement et la reperfusion de l'organe chez le receveur.

de durée supérieure à 24 h, une ischémie chaude<sup>9</sup> associée et prolongée, et la cause de la mort encéphalique (accident vasculaire) (figure 7.2). Les lésions préexistantes au niveau des reins chez le donneur sont également à prendre en compte comme les lésions de glomérusclérose avec atrophie tubulaire ou les lésions de fibrose interstitielle et vasculaires (Schwarz et Oberbauer, 2003 ; Opelz et Döhler, 2007). Les facteurs impliqués dans la non-fonction primaire<sup>10</sup> du greffon semblent liés aux complications chirurgicales, à l'âge du donneur et du receveur supérieur à 60 ans, à un mauvais appariement HLA donneur/receveur et à une durée prolongée sur liste d'attente (Weiss-Salz et coll., 2004). D'autres facteurs peuvent intervenir parmi lesquels les complications vasculaires (thromboses ou sténoses), les infections, les effets secondaires des agents immunosuppresseurs et la non observance du traitement (Pratschke et coll., 2008). À l'ensemble de ces facteurs non immunologiques peuvent se surajouter des facteurs immunologiques qui vont conditionner le devenir du greffon. L'I/R est lui-même un facteur non immunologique influençant de façon précoce le devenir du greffon pour différents organes (Shaw et coll., 1985 ; Vacanti et coll., 1987 ; Greig et coll., 1989 ; Ploeg et coll., 1993 ; Sheridan et Bonventre, 2000 ; Weiss et coll., 2007).



**Figure 7.2 : Facteurs influençant la survie du greffon après transplantation**

9. L'ischémie chaude correspond au délai pendant lequel l'organe est encore dans l'organisme, *in situ*, non ou mal perfusé.

10. La non-fonction primaire du greffon est une reprise insuffisante de la fonction du greffon, incompatible avec la survie du receveur. Le seul traitement est la retransplantation.



Le phénomène d'I/R, initialement considéré comme un événement entourant le prélèvement, la conservation et la reperfusion, inclut aujourd'hui plus largement l'état du donneur, avec la période de la mort encéphalique ou celle de l'ischémie chaude dans le cas des donneurs à cœur arrêté.

La mort encéphalique entraîne des modifications hormonales avec une diminution de l'ADH (hormone anti-diurétique), de l'ACTH (*Adreno CorticoTropic Hormone*), des hormones thyroïdiennes et de la TSH (*Thyroid Stimulating Hormone*). Ces anomalies s'associent à une instabilité hémodynamique, à une production de catécholamines et de cytokines, à une réaction inflammatoire et à l'activation du complément (Bos et coll., 2007). Il s'ensuit des modifications de la volémie<sup>11</sup>, l'installation d'un diabète insipide<sup>12</sup>, pouvant s'accompagner d'une hypoperfusion du rein. L'endothélium est activé par un afflux de cellules inflammatoires et une activation de la coagulation qui vont avoir des conséquences sur le devenir de l'organe. Dans ce contexte, des moyens de protection vont se mettre en place et concernent l'hème-oxygénase 1 (HO-1), les *Heat Shock Proteins* (HSP 70) et la manganèse superoxyde dismutase (MnSOD) (Nijboer et coll., 2004 ; Schuurs et coll., 2004 ; Bos et coll., 2005). Dans le cas d'une transplantation à partir de donneur vivant, l'expression de HO-1 peut être le témoin de la mise en place de moyens de protection tandis que dans celui d'un donneur en mort encéphalique, il peut au contraire être le marqueur des lésions (Bos et coll., 2007).

À ce jour, le mode de conservation le plus utilisé pour les greffons après leur prélèvement reste la conservation statique dans une solution à 4°C, après que l'organe ait été correctement lavé, le plus souvent par la même solution de conservation. Le but principal est de maintenir la viabilité des différents organes *ex vivo* pendant une période de temps suffisante pour leur transport éventuel du centre préleveur vers les centres transplantateurs, leur attribution selon le degré d'urgence, de priorité ou de meilleure compatibilité tissulaire et l'utilisation de tous les organes prélevés. La durée de conservation peut aller jusqu'à 48 heures (d'après les modèles théoriques thermodynamiques et d'après des données expérimentales). La gestion des organes est très différente selon qu'il s'agit d'un organe vital comme le cœur, le foie et le poumon, ou le rein pour lequel un retard à la reprise de fonction du greffon est tolérable grâce au recours à l'hémodialyse. Il est admis que la durée de la conservation représente un des facteurs prépondérants de reprise différée de fonction des greffons, avec une limite idéalement pour le rein se situant aux environs de 18 h (Opelz et Döhler, 2007).

---

11. Volémie : volume sanguin total

12. Diabète insipide : maladie se caractérisant par une incapacité des reins à concentrer les urines

Il apparaît que les solutions de conservation ne peuvent prévenir de façon exhaustive les lésions liées à l'I/R (Rauen et De Groot, 2004 ; Salahudeen, 2004 ; Jamieson et Friend, 2008). Les avancées récentes sur les mécanismes physiopathologiques impliqués dans l'I/R ont permis de mettre en évidence les composants importants de ce processus (Salahudeen, 2004).

Les conséquences des lésions d'I/R concernent tous les organes et l'effet le plus tangible est la reprise différée de fonction qui peut se définir comme la divergence entre la capacité fonctionnelle de l'organe transplanté et les besoins physiologiques du receveur. Le retard de fonction entraîne des difficultés dans la prise en charge des patients au décours de la transplantation en particulier pour le diagnostic de rejet aigu, l'adaptation posologique des médicaments potentiellement néphrotoxiques, un allongement de la durée d'hospitalisation et un surcoût évident.

L'I/R peut favoriser le risque de rejet aigu avec la mise en évidence d'une augmentation de la production de cytokines et d'une hyperexpression des antigènes du CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) de classe I et II sur les cellules présentatrices, responsable d'une immunogénicité accrue. Plusieurs études ont confirmé que les patients présentant des reprises différées de fonction immédiatement après la greffe ont un pourcentage élevé de rejets aigus (Nicholson et coll., 1996 ; Ojo et coll., 1997). Ces faits restent d'actualité avec l'emploi des nouveaux traitements immunosuppresseurs (Mikhalski et coll., 2008). Les lésions précoces peuvent aussi participer au développement des lésions chroniques par le biais de l'immunité innée (Land, 2005a et b).

Des études récentes (Land, 2005b ; Boros et Bromberg, 2006) expérimentales et cliniques suggèrent que des composés mis en jeu dans le processus d'I/R pourraient contribuer au développement des lésions chez le patient transplanté :

- les espèces réactives de l'oxygène (ERO) activent le système inné du donneur et du receveur ;
- certains ligands des *Toll-Like Receptors* (TLRs) au niveau de l'hôte comme les HSP interagissent avec les cellules dendritiques TLR4 positives et les activent. Les cellules dendritiques induisent la réponse allo-immune adaptative (rejet aigu). Les cellules dendritiques interagissent également avec les cellules vasculaires TLR4 positives et les activent, contribuant ainsi au développement des lésions chroniques ;
- la signalisation liée au TLR4 est impliquée dans les lésions de reperfusion, et semble impliquer le marqueur de différenciation myéloïde 88-indépendant, le domaine Toll du récepteur de l'interleukine-1 induisant l'activation des voies dépendantes de l'interféron  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) qui semblent associées à la maturation des cellules dendritiques.

## Mécanismes physiologiques mis en jeu au cours de la conservation

Depuis plusieurs dizaines d'années, les principes de la conservation ont reposé sur des principes et des bases empiriques (Hicks et coll., 2006). Les deux points essentiels étaient :

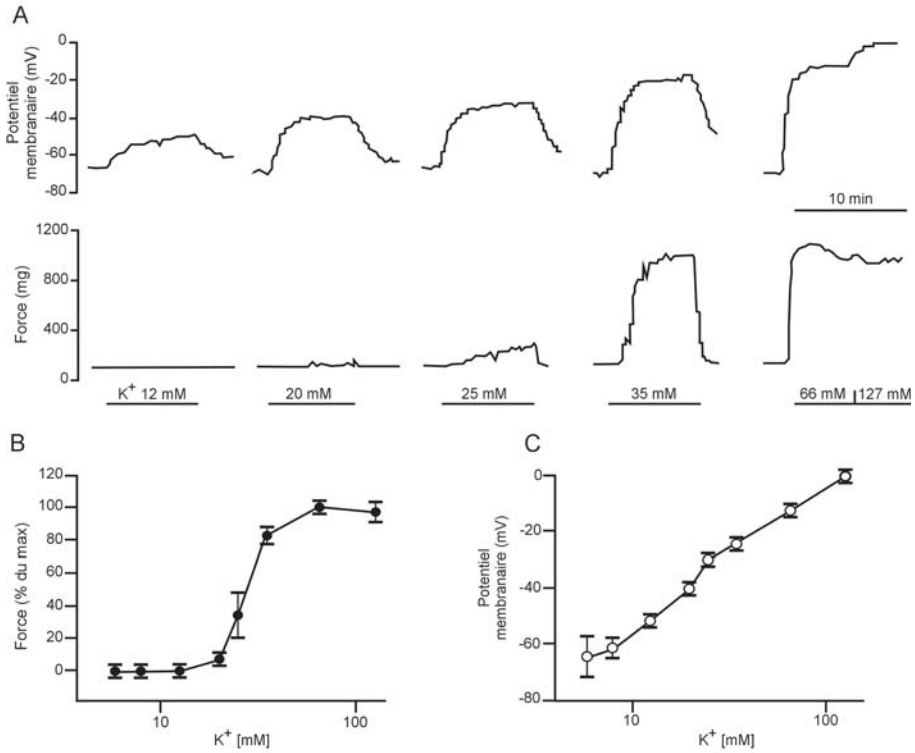
- l'hypothermie autour de 4°C reposant sur le principe de la diminution du métabolisme de 50 %, en réduisant la température par paliers de 10°C ;
- la composition d'une solution de conservation devait ressembler au milieu intra-cellulaire avec une composition essentiellement hyperpotassique.

### Potassium et ATP

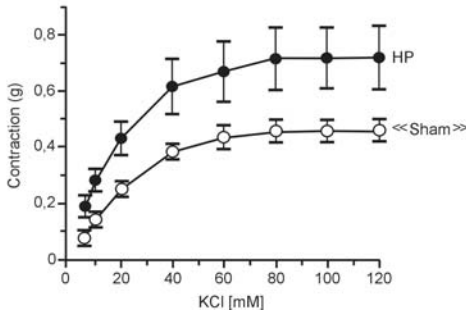
Les solutions de conservation hyperpotassiques présentent des effets indésirables, qui étaient partiellement masqués par les effets bénéfiques des colloïdes et des imperméants ajoutés aux premières solutions cristalloïdes pures. Les concentrations élevées en  $K^+$  sont à l'origine d'une dépolarisation cellulaire, qui induit au niveau du muscle lisse vasculaire une contraction par ouverture des canaux calciques dépendants du voltage (figure 7.3). La vasoconstriction induite, même si elle est plus faible à 4°C, augmente les pressions de perfusion pendant le rinçage de l'organe, et diminue le débit de perfusion pendant la reperfusion. Pour combattre cette vasoconstriction, certaines équipes ajoutent des inhibiteurs calciques aux solutions de conservation, alors qu'il suffirait d'utiliser des solutions non-hyperpotassiques. La perte du gradient de concentration potassique de part et d'autre de la membrane cellulaire entraîne une accélération du fonctionnement des pompes ioniques qui accentue la déplétion en composés riches en énergie (ATP et, selon les tissus, phosphocréatine) (figure 7.4). La dégradation de l'ATP représente la principale source de protons  $H^+$  génératrice d'acidose.

Ces effets du potassium et de la chute de l'ATP ne sont pas sans conséquence sur le lit vasculaire de l'organe conservé et en particulier en cas de conservation prolongée. Dragun et coll. ont rapporté l'effet de la conservation prolongée sur les lésions vasculaires (Dragun et coll., 2001).

Partie supérieure



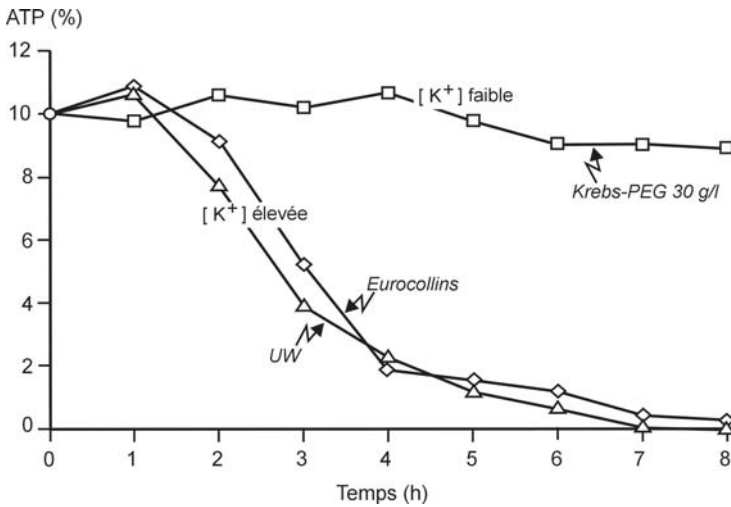
Partie inférieure



**Figure 7.3 : Effet du potassium sur la contraction des myocytes (partie supérieure) et sur celle de l'aorte de rat ayant une hypertension portale (partie inférieure)**

Partie supérieure : Effets de la concentration extracellulaire du K<sup>+</sup> sur le potentiel membranaire et sur la force de contraction et sa durée (A). Effets du K<sup>+</sup> extracellulaire et de sa concentration sur la force contractile par rapport à la valeur maximale (B) et sur le potentiel de membrane de myocytes de lapin (C) (d'après Gokina et Bevan, 2000)

Partie inférieure : Augmentation de la vasoconstriction d'aorte de rat présentant une hypertension portale (HP) (d'après Connolly et coll., 1999)



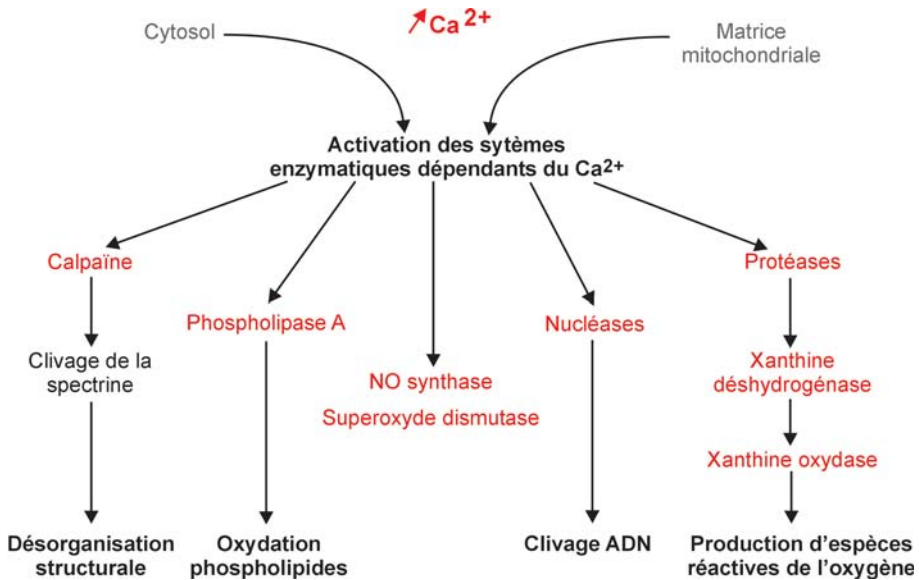
**Figure 7.4 : Concentration d'ATP dans le rein de rat isolé perfusé durant l'ischémie froide. Des résultats similaires ont été obtenus dans le modèle de cœur isolé (d'après Bauza et coll., 1996 ; Eugene et coll., 1997)**

## Calcium

Le Ca<sup>2+</sup> joue également un rôle important (et variable suivant l'organe conservé) au cours de l'hypoxie et de l'hypothermie. Ce rôle est lié au fait que le Ca<sup>2+</sup> est régulé de manière extrêmement étroite au niveau du cytosol et dans les différents organites et réservoirs de la cellule. Il joue un rôle majeur dans l'activation de différentes protéases comme la calpaïne, ou celle d'autres composés intervenant dans la formation de xanthine oxydase. La calpaïne intervient dans l'altération du cytosquelette de la cellule (Jassem et coll., 2002 ; Rauen et De Groot, 2004 ; Salahudeen, 2004 ; Jamieson et Friend, 2008) (figure 7.5).

Il est clair que l'homéostasie calcique est perturbée lors de la conservation à cause des dysfonctions des différents transporteurs impliqués dans sa régulation (Rauen et de Groot, 2004). Une augmentation de la concentration du Ca<sup>2+</sup> cytosolique est reconnue comme un médiateur décisif des lésions d'hypoxie dans différents types cellulaires incluant les cellules tubulaires rénales, les hépatocytes et les cardiomyocytes (Blankensteijn et Terpstra, 1991 ; Kribben et coll., 1994 ; Rosser et Gores, 1995 ; Piper et Garcia-Dorado, 1999 ; Auger et coll., 2003 ; Padanilam, 2003). L'augmentation du Ca<sup>2+</sup> cytosolique est liée à l'inhibition des transporteurs ATP dépendants et induit l'activation de nombreuses enzymes dépendantes du Ca<sup>2+</sup> qui vont participer à de nombreux mécanismes lésionnels létaux au niveau de la cellule. La surcharge calcique

est retrouvée également au niveau de la mitochondrie et entraîne des effets délétères pour l'intégrité et les fonctions de celle-ci.



**Figure 7.5 : Impact du calcium au niveau de la cellule. En rouge sont indiquées les voies ou enzymes qui sont activées ou modifiées et en noir les conséquences de ces modifications**

### Imperméants et colloïdes

Au syndrome d'ischémie/reperfusion est associé un œdème cellulaire lié entre autres à l'accumulation des métabolites produits pendant la dégradation de l'ATP et à la production d'ions  $H^+$ , qui surviennent pendant la conservation hypothermique. L'œdème, intracellulaire et interstitiel, est particulièrement délétère sur la viabilité cellulaire et l'intégrité de la matrice extracellulaire. L'œdème tissulaire entraîne par ailleurs une compression du lit vasculaire et une augmentation de la résistance vasculaire qui diminue le débit de perfusion de l'organe au moment de la reperfusion. Au niveau intracellulaire, il entraîne un gonflement mitochondrial qui s'accompagne d'un dysfonctionnement du métabolisme aérobie, d'une augmentation de la production de radicaux libres oxygénés et de la destruction des membranes cellulaires. La présence dans le milieu extracellulaire de molécules exerçant une pression oncotique permettant d'éviter l'œdème est indispensable. Il est classique de diviser les molécules limitant l'œdème en deux familles : les imperméants et les colloïdes.

Les imperméants sont soit des sucres (raffinose, sucrose, mannitol, glucose) qui limitent par la pression osmotique qu'ils exercent dans le compartiment vasculaire, la formation de l'œdème intracellulaire (leur efficacité étant proportionnelle à l'importance de leur poids moléculaire) ; soit des anions tels que le citrate, le gluconate ou l'acide lactobionique qui présentent également un effet protecteur de membrane. Le glucose pouvant passer la membrane cellulaire n'est pas considéré comme un imperméant efficace (Mühlbacher et coll., 1999). Les autres saccharides comme le mannitol, le sucrose, ou le raffinose ont été employés dans différentes solutions (Coffey et Andrews, 1983 ; Lam et coll., 1989). Les imperméants qui ne sont pas des sucres comme le gluconate, le citrate ou le lactobionate limitent l'œdème cellulaire par leur effet électrochimique et l'efficacité de ces anions est déterminée par leur charge et leur poids moléculaire.

Les colloïdes tels que l'hydroxy-éthyl amidon (HEA), le polyéthylèneglycol (PEG), l'albumine, le dextran... ne peuvent pas passer la membrane cellulaire et préviennent la constitution d'un œdème interstitiel par la pression oncotique qu'ils exercent au niveau de l'espace intra vasculaire. Leur utilisation semble particulièrement bénéfique pour des temps d'ischémie longs. Le rôle de certains de ces colloïdes comme l'HEA reste discuté (Ploeg et coll., 1992 ; van der Plaats et coll., 2004). Il a été démontré que l'HEA augmentait les amas des globules rouges pouvant perturber le lavage et induire une reperfusion inhomogène (Morariu et coll., 2003 ; van der Plaats et coll., 2004). Ces constatations ont conduit à l'évaluation de nouvelles molécules comme le PEG qui semble prometteur (Ben Abdennebi et coll., 2002 ; Faure et coll., 2004a et b ; Dutheil et coll., 2006 ; Fuller et coll., 2006 ; Maathuis et coll., 2008 ; Hauet et Eugene, 2008).

Le fait que les solutions de conservation doivent au moins être pourvues d'un imperméant ou d'un colloïde est acquis. Les solutions ne comportant pas de telles associations de molécules comme les solutions Custodiol® ou Celsior® démontrent une efficacité limitée pour des temps de conservation prolongée (> 18 h) mais inchangée pour des temps plus courts (Fiser et coll., 2001 ; McLaren et Friend, 2003 ; Agarwal et coll., 2006 ; Maathuis et coll., 2007a ; Opelz et Döhler, 2007).

La perfusion de l'organe au moment du prélèvement, et donc la qualité du rinçage du lit vasculaire, seront d'autant meilleures que la viscosité de la solution sera basse. Il est donc clair qu'une solution idéale est une solution dont l'index de viscosité n'est pas trop élevé. Cependant, la solution UW qui a une viscosité cinématique d'environ 3,159 cSt (centistoke) donne d'aussi bons résultats que d'autres liquides dont la viscosité est inférieure à 1,2 cSt, ce qui prouve que d'autres facteurs déterminants sont associés. Par ailleurs, il ne faut pas oublier que les solutions à pression oncotique élevée sont généralement plus visqueuses que celles à pression oncotique basse. Il est vraisemblable que la viscosité des solutions (à condition de ne pas être

trop élevée) contribue à une meilleure élimination des cellules circulantes par effet d'entraînement dans le lit vasculaire de l'organe perfusé. Toutefois, la viscosité diminuerait le lavage de certains territoires capillaires et augmenterait les pressions de perfusion (Badet et coll., 2006).

### Acidose et ATP

Le rôle de l'acidose et de la déplétion énergétique reste également un point majeur (Southard et Belzer, 1995 ; Hicks et coll., 2006). L'hydrolyse de l'ATP est la principale source de protons et est responsable de l'acidose. La production anaérobie de lactate – qui consomme des protons – permet la réoxydation du NADH en NAD et ainsi le maintien pendant un certain temps de la production d'ATP par la glycolyse anaérobie. Il se développe donc une acidose intracellulaire qui se stabilise autour d'un pH à  $6 \pm 0,2$ . Un certain degré d'acidose intracellulaire exerce toutefois des effets bénéfiques pendant la conservation à 4°C en limitant la surcharge calcique. Les principaux tampons fréquemment utilisés sont les tampons bicarbonate, phosphate, histidine, HEPES, tryptophane (Southard et Belzer, 1995). Le rôle indispensable du tampon est d'amortir les variations de pH du compartiment intra vasculaire, interstitiel et cellulaire. La valeur finale du pH intracellulaire en fin d'ischémie varie relativement peu (0,2 à 0,3 unités pH) en fonction des différents systèmes tampon utilisés (Southard et Belzer, 1995 ; Hicks et coll., 2006).

### Composition électrolytique

Enfin, le dernier aspect concerne la composition électrolytique. Il était initialement admis que les solutions de conservation devaient être hyperpotassiques comme le milieu intracellulaire, permettant de limiter l'entrée d'eau et de  $\text{Na}^+$  dans la cellule. Cependant, plusieurs constatations remettent en cause ce principe. Tout d'abord, la physiologie de la cellule impose de disposer de part et d'autres de sa membrane d'un milieu intra-cellulaire et extra-cellulaire (riche en  $\text{Na}^+$ ). Le  $\text{K}^+$  est un vasoconstricteur puissant et de ce fait a un effet sur le lit vasculaire des organes gênant ainsi le lavage et perturbant la reperfusion aggravant le phénomène de *no-reflow* (non-recirculation). La susceptibilité de la cellule endothéliale pendant la conservation et l'I/R est bien établie (Basile, 2007 ; Wille et coll., 2008). La réduction du  $\text{K}^+$  dans les solutions de conservation n'a pas démontré d'effet délétère sur les organes (Shiyya et coll., 1993 ; Hauet et coll., 2003). D'autres études ont démontré l'effet bénéfique des solutions à basse concentration de  $\text{K}^+$  (mais non strictement normopotassique) comme la solution Celsior® et Custodiol® (Sumimoto et coll., 1991 ; Urushihara et coll., 1992 ; Shiyya et coll., 1993 ; Ben Abdennebi et coll., 1998 ; de Boer et coll., 1999 ; Hauet et coll., 2003 ; Pedotti et coll., 2004 ; Feng et coll., 2007).



En conclusion, les éléments importants pour la conservation du greffon peuvent se résumer aux imperméants, aux colloïdes et à une solution tampon adaptée.

## Mécanismes cellulaires et moléculaires de l'ischémie/reperfusion

Avec le développement des moyens d'évaluation, de nouveaux éléments pouvant jouer un rôle physiopathologique ont été repérés et étudiés. Dans le contexte de l'I/R, on assiste à une augmentation de la mort cellulaire induite par nécrose ou par apoptose et impliquée dans les différents processus lésionnels (tableau 7.II). La conjonction de différents facteurs, tels que l'hypoxie, l'hypothermie, le réchauffement et la réoxygénation, peut conduire à la mort cellulaire.

**Tableau 7.II : Différences entre les lésions induites par apoptose ou nécrose**

Type de lésions	Apoptose	Nécrose
<b>Modifications histologiques</b>		
Localisation	Éparse	Systématisée
Volume cellulaire	Rétracté	Gonflé
Surface cellulaire	Étanche	Perméable
Chromatine	Condensée	En amas
Mécanisme de réponse	Phagocytose	Inflammation
<b>Phénomènes biochimiques</b>		
Régulation	Complexe	–
Voies enzymatiques	Complète (jusqu'à l'effecteur final)	Partielle
Biosynthèse	Oui (nécessité d'ATP)	Non
Fragmentation de l'ADN	Par étape (organisé et ordonné)	Dispersé

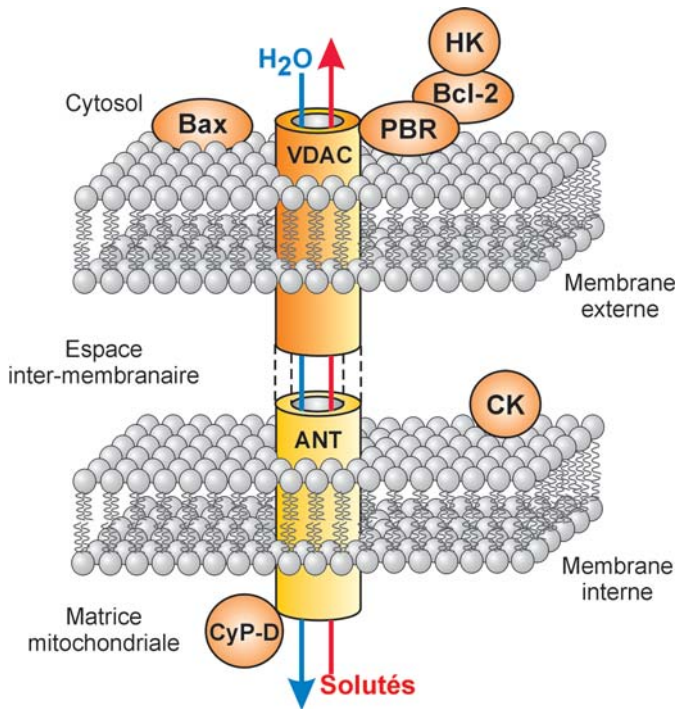
## Rôle de la mitochondrie et des voies de l'apoptose

Le rôle de la mitochondrie apparaît primordial dans le syndrome d'ischémie/reperfusion. Il a été mis en évidence un œdème mitochondrial induit par l'ischémie froide et une activation de la voie apoptotique marquée par une translocation du cytochrome C, ainsi qu'une augmentation du ratio Bax/Bcl-2 avec une activation de la caspase 3 au moment de la reperfusion (Jassem et coll., 2002 ; Salahudeen, 2004 ; Rauen et De Groot, 2004 ; Jassem et Heaton, 2004). D'autres mécanismes pourraient également être impliqués (Lopez-Neblina et coll., 2005). La part entre apoptose et nécrose dans le

processus de mort cellulaire est étroitement liée au niveau d'ATP résiduel et donc à la durée d'ischémie. Le rein est constitué de divers segments tubulaires qui pourraient mettre en jeu des mécanismes différents de lésions cellulaires (Ma et Devarajan, 2008).

Il est bien établi que la conservation et l'ischémie chaude entraînent des lésions de nécrose tubulaire au niveau du rein. Cependant, des travaux récents ont mis en évidence le rôle de l'apoptose, en particulier durant la reperfusion (Burns et coll., 1998 ; Salahudeen et coll., 2001). Au cours de l'I/R, plusieurs voies apoptotiques sont impliquées et la mitochondrie occupe une place centrale dans ce processus (Jassem et coll., 2002 ; Kim et Lemasters, 2003 ; Kim et coll., 2003 ; Nieminen, 2003 ; Jassem et Heaton, 2004). Un des mécanismes suspectés est fondé sur le pore de transition de perméabilité membranaire (mPTP) de la mitochondrie. Son ouverture est à l'origine de modifications de l'intégrité mitochondriale avec libération de cytochrome C dans le cytoplasme. Le mPTP est une structure particulièrement représentée au niveau des zones de jonction entre la membrane externe et la membrane interne de la mitochondrie (figure 7.6). Structuellement, le mPTP est constitué de l'adénine nucléotide translocase (ANT), de la cyclophiline D (Cyp-D) et du *Voltage Dependant Anion Chanel* (VDAC). Il faut noter aussi au niveau de ces points de jonction la présence du récepteur périphérique des benzodiazépines (PBR). On retrouve également des protéines de la famille Bcl-2 : Bax, Bcl-Xl et Bcl-2. À l'état normal, le ratio Bcl-2 sur Bax est en faveur de Bcl-2 et donc orienté vers l'état anti-apoptotique. Durant la conservation, ce ratio est inversé en faveur de Bax et donc d'un état pro-apoptotique (Salahudeen et coll., 2003). Une autre étude a montré que les voies mitochondriales de l'apoptose jouaient un rôle primordial au cours de l'I/R chez les patients greffés avec un rein provenant d'un donneur en mort encéphalique (Castaneda et coll., 2003). Sous l'effet de différents facteurs liés à la reperfusion (comme la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou le  $Ca^{2+}$ ) ou à la conservation du greffon, la mitochondrie va laisser sortir le cytochrome C. L'association du cytochrome C avec d'autres protéines pro-apoptotiques va conduire à la formation d'un complexe (appelé apoptosome) auquel se lie l'ATP et la pro-caspase 9. Ce complexe va permettre le recrutement d'autres caspases (1, 2, 3 et 4) et l'activation de l'effecteur final, la caspase 3.

Une des particularités de ce mPTP est d'être modulé par différents facteurs comme le  $Ca^{2+}$  et les ERO qui favorisent son ouverture ou la ciclosporine A qui l'empêche (Crompton, 2000 ; Feldmann et coll., 2000). Durant la conservation du greffon rénal, il a été mis en évidence dans les cellules tubulaires rénales humaines des modifications du mPTP ainsi qu'un œdème mitochondrial (Salahudeen et coll., 2003). Ces effets sont dus à la libération du cytochrome C et aux modifications du ratio de Bax et Bcl-2. La phase finale caractérisée par l'activation de la caspase 3 survient durant le réchauffement.



**Figure 7.6 : Structure du pore de transition de perméabilité membranaire mitochondriale**

Le pore est essentiellement localisé aux points d'accolement entre les membranes externe et interne de la mitochondrie. Il est constitué de l'Adenine Nucleotide Translocator (ANT), du Voltage Dependent Anion Channel (VDAC) et de la cyclophiline D (CyP-D). Les protéines impliquées dans l'apoptose (Bax, Bcl-2) et le récepteur périphérique aux benzodiazépines (PBR), la créatine kinase (CK) et l'hexokinase (HK) pourraient jouer un rôle.

En ce qui concerne les autres modalités de mise en œuvre de l'apoptose, la voie extrinsèque liée à Fas et à ses ligands, semble être impliquée dans l'infarctus du myocarde chez la souris (Lee et coll., 2003). Un rôle pour CD95/Fas/Apo 1 et le facteur de nécrose tissulaire TNF- $\alpha$  (*Tumor Necrosis Factor  $\alpha$* ) a été suggéré dans un modèle de cœur isolé de rat (Jeremias et coll., 2000). D'autres récepteurs comme les *Tumor necrosis factor-Related Apoptosis-Inducing Ligand receptors 1 and 2* (TRAIL R-1/2, induits par la voie TNF liée à l'apoptose) et le récepteur de Tweak sont autant de récepteurs membranaires impliqués. Ils constituent la voie extrinsèque de l'apoptose (Lopez-Neblina et coll., 2005). La liaison des ligands à ces récepteurs entraîne leur trimérisation et le recrutement d'une protéine adaptatrice permettant d'enclencher le clivage protéolytique des pro-caspases 8, 10 et 2 qui conduit à l'activation des pro-caspases 3, 6 et 7. Le complexe Fas/Apo-1/CD95 est impliqué à la fois dans l'apoptose et la réaction inflammatoire. Le rôle de

cette voie extrinsèque reste à clarifier pour les autres organes que le cœur. Des travaux récents ont démontré le rôle de certaines cellules rénales dans la sécrétion de TNF au cours de la phase très précoce de l'I/R. Ces résultats replacent le rôle de TNF dans le contexte de l'I/R (Dong et coll., 2007). Il faut souligner que les modèles utilisés sont majoritairement des modèles d'ischémie chaude.

Une augmentation de l'activité de la caspase 3 a été mise en évidence de façon régulière après l'I/R suggérant que la voie Fas ou mitochondriale pourrait initier l'apoptose après l'I/R. D'autres voies induites par le stress comme la voie NF- $\kappa$ B/IKK et la voie p53 ont aussi été identifiées et pourraient jouer un rôle important dans l'I/R (Fortin et coll., 2001 ; Tanaka et coll., 2005).

### **Importance de la calpaïne, de la calpastatine et des protéines PKC**

Le cytosquelette est également impliqué dans le syndrome d'I/R (Mangino et coll., 2008). L'activation de la calpaïne, une protéase dépendante du  $\text{Ca}^{2+}$ , agit sur l'organisation du cytosquelette en dégradant la spectrine et conduit à la perte de la structure de la cellule, de la polarité cellulaire et des contacts avec les autres cellules (Goll et coll., 2003). Ces résultats, mis en évidence dans les modèles d'ischémie chaude et qui restent à confirmer dans le cas de l'ischémie froide, ont souligné le rôle de la calpastatine, inhibiteur endogène de la calpaïne. La famille des protéines kinase C (PKC) impliquées dans différentes fonctions cellulaires, dont la régulation du cycle cellulaire, constitue une autre cible potentielle au cours de la phase de réparation (Padanilam, 2001). Compte tenu du fait que cette famille de protéines comporte environ une dizaine d'isoenzymes, le rôle des PKC dans l'I/R est parfois contradictoire et de nouvelles études (utilisant des anticorps spécifiques et des molécules pouvant réguler les effets de ces molécules) permettront de clarifier leur contribution.

### **Rôle de la production des espèces réactives de l'oxygène et du fer**

Les ERO sont des médiateurs importants de l'I/R au cours de la reperfusion. Leur rôle au cours de la conservation est moins évident car l'hypothermie semble plutôt limiter le métabolisme de la cellule et ralentir ainsi tout processus de synthèse délétère ou non. Des travaux récents ont permis de mettre en évidence le rôle des ERO durant cette phase (Rauen et coll., 1997 ; Rauen et de Groot, 1998 ; Salahudeen et coll., 2000). L'idée d'ajouter des anti-oxydants dans une solution de conservation débute avec Belzer (Southard et Belzer, 1995). Elle doit maintenant prendre en compte les connaissances récentes sur les mécanismes majoritaires de production de ces ERO pour adapter les options thérapeutiques. Certaines études ont mis en

évidence une augmentation de production de l'ARN messager de la manganèse superoxyde dismutase (MnSOD) au cours de la conservation (Salahudeen et coll., 2000). Cette enzyme a été retrouvée diminuée qualitativement et quantitativement dans d'autres études (Cruthirds et coll., 2003). Des lésions mitochondriales associées à la conservation ont également été décrites (Kosieradzki et coll., 2003a ; Salahudeen et coll., 2003). Ces données indiquent que le découplage mitochondrial et la perturbation de la tétraréduction de l'oxygène au cours de l'I/R et de la conservation sont probablement à l'origine de la petite quantité d'ERO produite à cette étape. La production sera ensuite majorée au cours de la reperfusion.

La production d'ERO durant l'I/R peut se faire à plusieurs niveaux :

- l'activation de la xanthine oxydase qui produit des ions superoxyde lors de la reperfusion en métabolisant en acide urique l'adénosine libérée du fait de la dégradation de l'ATP pendant l'ischémie ;
- l'activation de la voie de la cyclo-oxygénase du métabolisme de l'acide arachidonique ;
- l'activation de la chaîne de transport des électrons de la mitochondrie pendant l'ischémie ;
- la libération de NO par les cellules endothéliales ;
- l'activation des polynucléaires neutrophiles pendant la reperfusion. Le fer, ion métal, joue un rôle dans la production des ERO en participant au cycle de Haber Weiss (Koppenol, 2001).

Au cours de la production d'ERO par la mitochondrie, le superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) peut réagir avec le peroxyde d'hydrogène, pour donner le radical hydroxyle hautement réactif, qui peut être à l'origine de l'oxydation des constituants cellulaires. Cette réaction est catalysée par des ions de certains métaux de transition, tels que le fer ou le cuivre. La première étape est la réduction de l'ion ferrique en ion ferreux suivie de la réaction de Fenton et production de  $OH^\cdot$ . Il a été récemment mis en évidence la libération de fer libre à partir des protéines de stockage durant la conservation (Huang et Salahudeen, 2002). Ces résultats ont servi de base à l'utilisation de chélateurs du fer comme la déféroxamine dans les solutions de conservation. Cependant, l'utilisation en clinique reste limitée.

### **Autres facteurs physiopathologiques**

On retrouve dans ces nouveaux facteurs, les F2-isoprostanes qui sont issues du métabolisme des prostaglandines. Formées lors de la peroxydation lipidique, elles sont vasoconstrictrices et pourraient jouer un rôle majeur dans la dysfonction du greffon en particulier du greffon rénal (Morrow et coll., 1990 ; Takahashi et coll., 1992 ; Morrow et coll., 1993 ; Salahudeen et coll., 1999). D'autres acteurs potentiels ont été décrits dans l'I/R, et plus

particulièrement dans l'ischémie chaude, comme la stathmine intervenant dans le cycle cellulaire ou l'EphA2 appartenant à la famille des récepteurs à tyrosine kinases ainsi que le ligand Ephrin (Baldwin et coll., 2006 ; Jayle et coll., 2007).

De manière récente, l'enzyme nucléaire poly (ADP-ribose) polymérase (PARP) a été impliquée dans l'I/R normothermique. Son rôle dans la conservation à 4°C a aussi été mis en évidence avec possiblement un rôle protecteur qui reste à préciser (Mangino et coll., 2004). D'autres mécanismes font actuellement l'objet d'investigations. L'*Hypoxia Inducible Factor* (HIF-1 $\alpha$ ) en activant la transcription de gènes comme le VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), l'érythropoïétine (EPO) ou HO-1 constitue un moyen de protection face à l'hypoxie. Le rôle de HIF-1 $\alpha$  dans le contexte de l'I/R en transplantation demande à être évalué de manière précise afin de déterminer quel est son rôle protecteur à court terme et son influence sur le développement de lésions chroniques sachant que ce facteur peut moduler la production du *Connective Tissue Growth Factor* (CTGF) et du *Plasminogen Activator Inhibitor 1* (PAI-1) (Haase, 2006 ; Higgins et coll., 2008).

L'hypoxie a été impliquée dans la maturation des cellules dendritiques (Rama et coll., 2008). Pour le rein, les études se sont focalisées sur la sensibilité du tubule proximal au cours de l'I/R. Cependant, la cellule endothéliale reste une des premières cibles compte tenu des mécanismes mis en jeu comme la production de NO, la présence de cellules inflammatoires participant au phénomène de « *no reflow* », la production de médiateurs venant du métabolisme des prostaglandines et ayant un effet vasoconstricteur (Cicco et coll., 2005).

Un dernier aspect à noter est l'influence du sexe sur l'I/R et ses complications. Les hormones sexuelles semblent agir sur les *Mitogen Activated Proteins Kinase* (MAPK), la synthèse du NO, la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase, l'endothéline, l'adénosine et les canaux potassiques sensibles à l'ATP, les acteurs de l'apoptose. Il s'agit là d'autant de facteurs dont il importe de comprendre les relations et les effets.

### Conséquences pour les solutions de conservation

L'ensemble de ces données montre que les solutions de conservation actuellement disponibles sont loin de répondre totalement aux problèmes physiopathologiques liés à la conservation d'organes et à l'ischémie/reperfusion. Cela amène aussi la question des solutions multi-organes. En général, ces solutions sont mises au point pour un organe particulier et leur utilisation est ensuite élargie aux autres organes (Karam et coll., 2005), ce qui permet de répondre que partiellement aux objectifs spécifiques à chacun d'eux.

Actuellement, de nombreuses solutions sont disponibles. Leur composition est très différente et on distingue trois grandes familles (tableau 7.III) :

- les solutions à concentration en K supérieure à 30 mM et à concentration en Na inférieure à 100 mM (souvent appelées intracellulaires) ;
- les solutions à concentration en K inférieure à 30 mM et à concentration en Na supérieure à 100 mM (appelées extracellulaires) ;
- les solutions à concentrations en K et à Na inférieures à 30 mM.

Chacun de ces 3 groupes inclut des solutions cristalloïdes pures ou contenant des imperméants et/ou colloïdes. Les solutions les plus utilisées pour le rein sont l'UW et le Custodiol® et de façon plus marginale le Celsior®. Les autres solutions restent marginales dans leur fréquence d'utilisation pour le moment.

**Tableau 7.III : Différents types de solutions de conservation**

	Na <sup>1</sup>	K <sup>1</sup>	Imper. Coll. <sup>2</sup>	PEG	Cœur	Poumon	Rein	Foie	Pancréas
UW-Belzer-Viaspan	28	125	Oui		x	x	x	x	x
Cardiosol	40	125	Oui	Oui	x				
EC (Eurocollins)	10	113	Non			x	x		
Unisol UHK-Org Rec Syst	62,5	70	Oui						
IGL 1	125	30	Oui	Oui			o	o	
BMPS Belzer Mach Perf	100	25	Oui				x		
Lyon Cœur LYPS	110	20	Oui	Oui	x				
St Thomas 1-MacCarthy	144	20	Non		x				
St Thomas 2-Plegisol	110	16	Non		x				
Celsior	100	15	Oui		x	x	x	x	x
Carolina CRS	115	6	Oui					x	
LPD Perfadex	138	6	Oui			x			
SCOT Maco	143	6	Oui	Oui	o		o	o	
Blood Wallwork	105	4	Oui		x	x			
HTK, Custodiol, Bretchneider	15	18	Oui		x		x	x	x
Roe	28	20	Non		x				
Stanford	30	27	Oui		x				

<sup>1</sup> Concentration en mM ; <sup>2</sup> Imperméants et/ou colloïdes ; X : études publiées ; o : résultats préliminaires publiés

## Approches génomiques des mécanismes de l'ischémie/reperfusion

Il existe globalement peu de données sur les approches génomiques des mécanismes de l'ischémie/reperfusion. Il faut noter d'emblée une grande diversité des modèles expérimentaux quant aux espèces utilisées et aux

conditions expérimentales. L'étude moléculaire de l'I/R a mis en évidence des gènes impliqués dans certaines voies de signalisation telles que les voies pro- ou anti-apoptotiques, celle de HIF ou de HO-1. D'autres groupes de gènes exprimés au cours de l'I/R ont été identifiés et sont surtout ceux de l'inflammation, des *Heat Shock Proteins*, les gènes du cycle cellulaire et ceux gouvernant la prolifération et la différenciation ainsi que ceux régulant les protéines de transport (Hauser et coll., 2004 ; Conti et coll., 2007 ; Waller et coll., 2007). D'autres études se sont centrées sur des situations plus particulières comme les donneurs en état de mort encéphalique et les conditions de reprise de fonction (Kaminska et coll., 2007 ; Mas et coll., 2008). Les conditions de prélèvement ont également été évaluées et un profil d'expression différent a été mis en évidence concernant des gènes impliqués dans l'apoptose, l'adhérence cellulaire et les voies de signalisation, la croissance cellulaire et la prolifération, l'immunité et l'inflammation, l'ischémie et la réponse au stress ainsi que la dégradation protéique (Kurian et coll., 2005). Il apparaît que peu d'éléments sont disponibles sur la période de conservation. Cette phase de ralentissement métabolique n'est pas propice à la synthèse d'ARN messagers. Dans tous les cas, une meilleure connaissance de cette période est un impératif qui devrait permettre de caractériser les cibles thérapeutiques potentielles.

## Protection contre les dommages liés à l'ischémie/reperfusion

Les approches thérapeutiques peuvent concerner le donneur où des pistes comme l'utilisation d'agents pharmacologiques, de transfert de gènes ou encore le préconditionnement peuvent être envisagées. L'utilisation d'additifs pharmacologiques a été pratiquée de façon courante. Cependant, il n'y a pas actuellement de traitement ayant permis d'obtenir un effet thérapeutique indiscutable avec ce type d'approche qui reste limité par les problèmes d'ordre éthique et la difficulté de déterminer à quel moment utiliser ces traitements. Des interventions thérapeutiques sont également envisageables à différentes étapes de la transplantation au niveau du greffon ou du receveur afin de réduire les conséquences de l'I/R.

## Préconditionnement et postconditionnement

Des études expérimentales, menées sur des modèles *in vivo* chez les rongeurs et *in vitro*, ont établi le bénéfice du préconditionnement avant transplantation sur l'I/R, qu'il soit pharmacologique ou effectué par cycle de clampage/déclampage (Baldwin et coll., 2006 ; Leonard et coll., 2006 ; Burne-Taney et coll., 2006 ; Gottmann et coll., 2006 ; Herrero et coll., 2006 ; Nakajima et



coll., 2006). En revanche, le passage à des modèles pré-cliniques chez les grands mammifères reste décevant (Kosieradzki et coll., 2003b). En clinique, des traitements de suppléance hormonale pour les patients en état de mort encéphalique sont déjà utilisés. D'autres molécules ont été évaluées comme la N-acétyl cystéine. La surexpression de l'HO-1 protège contre l'I/R chez le rat (Blydt-Hansen et coll., 2003). Cependant, le rôle de l'expression de HO-1 au cours de la transplantation et son impact sur le devenir de la greffe restent à préciser chez l'homme (Geuken et coll., 2005).

Le préconditionnement par transfert de gènes a également été envisagé et concerne l'interleukine 10, l'interleukine 13 ou 16, l'inhibiteur de TNF, la NO synthase endothéliale, le récepteur de l'interleukine-1, l'HSP 70 et le gène suppresseur de NF- $\kappa$ B (Ke et coll., 2004 ; Chien et coll., 2007 ; Jamieson et Friend, 2008). D'autres techniques ont été utilisées comme les oligonucléotides antisens ou encore les *Small Interfering RNA* (siRNA), ARN interférents pouvant se lier spécifiquement à une séquence d'ADN et ainsi empêcher l'expression de gènes en clivant leurs ARN messagers (Chen et coll., 2001 ; Zheng et coll., 2006). Ces techniques prometteuses d'un point de vue expérimental méritent une évaluation plus précise pour définir les conditions de leur utilisation et s'assurer de leur innocuité. Le préconditionnement par l'hyperthermie pourrait également améliorer la tolérance à la conservation (Matsumoto et coll., 2001) et il semble que l'HSP 70 soit impliquée dans ce processus.

De manière plus récente, a été introduite la notion de postconditionnement fondée sur de brèves interruptions de la vascularisation au cours de la reperfusion. Il semble établi que cette voie est intéressante pour le cœur et quelques résultats sont publiés pour le rein (Chen et coll., 2007).

### **Additifs aux solutions de conservation**

De nombreuses études ont également été menées pour évaluer l'effet de l'ajout de molécules dans les liquides de conservation, mais peu de ces molécules ont été étudiées dans des modèles de transplantation. Cette revue sera limitée à un petit nombre de molécules ayant donné des résultats dans des modèles *in vivo* et qui concernent différents organes. Pour une analyse détaillée des différentes molécules, nous invitons le lecteur à se reporter aux revues récentes (Devarajan, 2005 ; Boros et Bromberg, 2006 ; Jamieson et Friend, 2008).

L'ajout de facteur de croissance dans les liquides de conservation a montré des effets intéressants en conservation rénale chez le chien (McAnulty et coll., 2002). Dans le même ordre d'idée, l'érythropoïétine pourrait avoir un rôle précieux aussi bien pour limiter les conséquences de l'I/R que pour favoriser la réparation de l'organe. L'effet du FR167653 a également été démontré dans des modèles de transplantation cardiaque, rénale et hépatique (Yoshinari

et coll., 2001 ; Koike et coll., 2004 ; Doucet et coll., 2008). Compte tenu des mécanismes en jeu, l'utilisation d'une seule molécule semble aléatoire (Jamieson et Friend, 2008). Il apparaît donc important de choisir des options thérapeutiques utilisant des composants qui agissent sur des voies diverses ou sur plusieurs molécules d'actions différentes. Le choix de la cible est également majeur, et dans ce sens la mitochondrie peut représenter une cible de premier plan (Morin et coll., 2001). Les molécules antioxydantes constituent une famille de choix pour améliorer la conservation du greffon, toutefois le choix du type de molécule est important. Les antioxydants stœchiométriques, qui sont efficaces en systèmes fermés, le sont bien moins en milieu vivant où interviennent les enzymes pro-oxydantes (qui produisent des milliers d'ERO à la seconde) et en conséquence les concentrations de ces « piègeurs » doivent être élevées. Ils conviennent bien comme radioprotecteurs, si le processus à l'origine de la formation des dérivés oxygénés est de très courte durée. En revanche, s'il s'agit de neutraliser des radicaux se formant de manière ininterrompue, pendant une certaine durée (activation de macrophages par cytokines, par exemple), il est clair que l'efficacité des antioxydants sera faible. Certaines molécules dérivées des flavonoïdes ont démontré des effets protecteurs lors de la conservation dans des modèles cellulaires (Ahlenstiel et coll., 2003 et 2006). Leur problème essentiel pour pouvoir être utilisées dans les solutions de conservation est leur insolubilité en milieu aqueux.

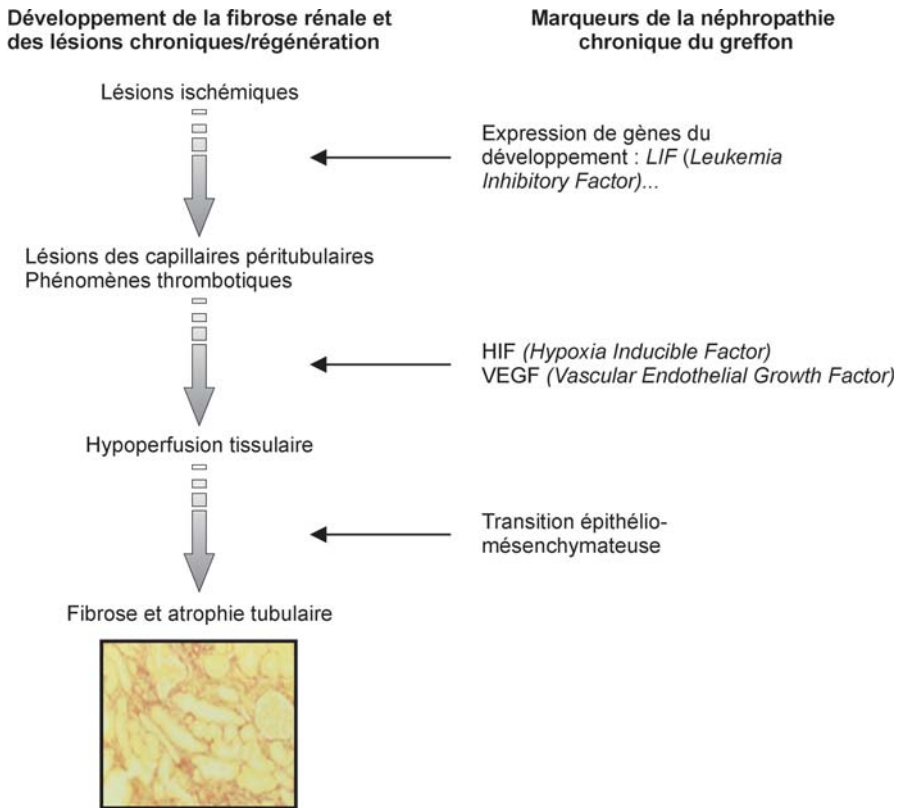
De nouvelles molécules, dont la particularité est de pouvoir agir sur des mitochondries perméables et donc déjà altérées, ont montré une efficacité intéressante contre l'I/R (Szetto, 2008). Ce point est d'importance car nombre de molécules ne peuvent atteindre leur cible dans des situations physiopathologiques diverses. Il semble cependant peu probable de disposer d'un produit unique à moins que celui-ci n'agisse à un stade très précoce ou sur des cibles majeures.

D'autres perspectives sont envisageables pour le rein avec l'utilisation de cellules souches mais cela reste encore du domaine expérimental (Morigi et coll., 2006 ; Lucas da Silva et coll., 2007). En effet, le rôle des cellules souches dans la réparation reste à préciser et pourrait se limiter à un intérêt pour la réparation vasculaire et à un rôle trophique.

## Conséquences post-tranplantation du syndrome d'ischémie/reperfusion

L'I/R est actuellement impliquée dans le devenir à long terme des greffons par son lien avec le développement (au niveau qualitatif et quantitatif) des lésions de revascularisation des organes (Basile et coll., 2001 et 2003). Dans le cas du rein, le concept de masse néphronique est aussi un point à considérer

par rapport aux moyens de réparation que peut mettre en œuvre le rein (Cruzado et coll., 2000). Il semble que le rein, au cours de la réparation, utilise majoritairement des populations de cellules résidentes et non des cellules périphériques (Humphreys et coll., 2008). Par conséquent, l'équilibre entre les lésions dues au syndrome d'I/R et les processus de restauration/régénération implique de préserver ce potentiel de réparation. Dans la figure 7.7, on retrouve une présentation des liens entre le processus lésionnel de l'I/R et la fibrose et l'atrophie tubulaire, qui sont les conséquences majeures.



**Figure 7.7 : Mécanismes intervenant dans le développement de la fibrose rénale**

La fibrose correspond à une évolution péjorative pour le greffon et constitue donc une cible thérapeutique (Mannon, 2006).

## Donneur à cœur arrêté

Les modifications démographiques des donneurs et l'intérêt d'utiliser des organes provenant de donneurs à cœur arrêté pour élargir le pool des donneurs font envisager l'utilisation de techniques de perfusion, déjà utilisées mais qui semblent avoir un regain d'intérêt dans ce contexte. Parmi les difficultés essentielles rencontrées avec ce type de donneur, la reprise différée de fonction ou la non reprise de fonction reste un problème majeur, laissant la place à d'autres protocoles (Ahmad et coll., 2006). Compte tenu là aussi d'un certain degré d'empirisme, d'autres techniques émergent comme la perfusion normothermique ou la perfusion oxygénée.

Dans le contexte des donneurs à cœur arrêté, l'ischémie chaude et l'ischémie froide sont associées et concourent au développement des lésions (Brasile et coll., 2001 ; Hosgood et coll., 2008). L'ischémie chaude est responsable de l'activation des cellules endothéliales, de leur œdème et des phénomènes inflammatoires et thrombotiques associés avec les conséquences rhéologiques décrites (augmentation de l'hématocrite dans les microvaisseaux, altérations de la fluidité sanguine, réduction du diamètre des capillaires et phénomène de « *no reflow* »).

## Perfusion

Un certain nombre de questions restent posées comme la nature de la perfusion en termes de pulsatilité, l'intérêt d'une oxygénation, le type de solution à utiliser ou encore la température de perfusion (Eugene et coll., 1997 ; Polyak et coll., 2000 ; Kirshbom et coll., 2002 ; Fitton et coll., 2005 ; Lindell et coll., 2005 ; Minor et coll., 2005 ; Baicu et coll., 2006 ; Bessems et coll., 2006 ; Matsuoka et coll., 2006 ; Fuller et Lee, 2007 ; Maathuis et coll., 2007b). Il n'en reste pas moins qu'un certain nombre d'avantages est à souligner avec ce type de conservation méritant ainsi une évaluation rationnelle (tableau 7.IV).

### Tableau 7.IV : Intérêts des différents types de perfusion

#### Machines à perfuser

Intérêt pour les donneurs marginaux  
Possibilité de mise en œuvre de traitement  
Possibilité d'évaluer les organes

#### Préservation normothermique

Intérêt pour les donneurs marginaux  
Environnement « physiologique »  
Évaluation  
Réparation

## Évaluation de la viabilité du greffon

L'évaluation de la viabilité du greffon par des biomarqueurs ou des techniques pertinentes et non invasives constitue certainement une voie d'étude prioritaire. Différents moments peuvent être envisagés pour cette évaluation entre la réanimation du donneur, la conservation et la reperfusion (tableau 7.V, Parikh et coll., 2007 ; Coca et coll., 2008). Disposer de tels marqueurs impose l'évaluation des outils permettant de les mesurer. Parmi ceux-ci, la spectroscopie RMN du proton reste d'actualité (Hauet et coll., 2000 ; Serkova et coll., 2005), en particulier avec les nouvelles techniques de haute résolution (Martinez-Granados et coll., 2006 ; Wishart, 2006). D'autre part, le moment de la perfusion par machine pourrait être mis à profit pour évaluer la viabilité de ces organes (Matsuno et coll., 2006). D'autres techniques pourraient avoir un intérêt dans ce contexte comme la microdialyse ou la bioimpédance électrique (Jamieson et Friend, 2008).

### Tableau 7.V : Marqueurs de viabilité et fonctionnalité des organes en transplantation

---

#### Différentes étapes où un marqueur a son importance

Donneurs  
Conservation  
Reperfusion

#### Facteurs potentiellement associés aux lésions

Rejet  
Nécrose tubulaire  
Toxicité ciclosporine

#### Marqueurs biochimiques

*N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) and B isoenzyme (NAG-B) (urine)*  
Alanylaminopeptidase (AAP)  
Gamma-glutamyltransferase (GGT)  
*Alpha and pi isoenzymes of glutathione S-transferase (alpha-GST, pi-GST)*  
*Retinol Binding Protein (RBP) and beta2-microglobulin (beta2M)*  
IL-18 (urine)  
*Neutrophil gelatinase-associated lipocalin*  
*Kidney Injury Molecule 1 (KIM 1) (urine)*

#### Marqueurs détectés par spectroscopie 1H-NMR et HR mass 1H-NMR

Triméthylamine N oxyde  
Allantoïne  
Lactate  
PUFA

---

## Phénomènes inflammatoires et relation entre l'I/R et immunité innée

L'I/R est également impliquée dans le lien entre les lésions qu'elle génère et l'immunité innée, via la maturation des cellules dendritiques et la voie des récepteurs *Toll-like* (Land, 2005a et b).

La relation entre l'inflammation des organes ayant subi une I/R et le développement de phénomènes immunologiques est actuellement l'objet d'un intérêt grandissant (Kieran et Rabb, 2004 ; Land, 2005a et b). Plusieurs types cellulaires interviennent au cours de l'inflammation et leur rôle est parfois contradictoire. Les macrophages semblent impliqués dans le processus fibrosant (Ko et coll., 2008) et leur fonction pourrait varier au cours de la reperfusion (Vinuesa et coll., 2008 ; Jang et coll., 2008). Les lymphocytes T pourraient participer à l'amplification de la reconnaissance antigénique ou à l'inverse, pour certains phénotypes avoir un effet protecteur (Ascon et coll., 2006 ; Savransky et coll., 2006 ; Huang et coll., 2007). Le rôle des lymphocytes B a été étudié et ces cellules semblent avoir un rôle dans la pathogénie de l'I/R (Burne-Taney et coll., 2003). Les cellules dendritiques et leur activation *via* la production des ERO constituent un lien entre l'I/R et l'immunité innée. Suite à l'engagement des récepteurs *Toll-like* (Boros et Bromberg, 2006 ; Land, 2005b), ces cellules deviennent actives et matures avec une modification de l'expression de leurs récepteurs de surface conduisant à leur migration vers les organes lymphoïdes secondaires (Boros et Bromberg, 2006). Les cellules dendritiques deviennent alors capables de stimuler les lymphocytes T naïfs. Il s'ensuit une augmentation de production et d'expression de nombreuses protéines pro-inflammatoires (cytokines et chimiokines et leurs récepteurs) (Furuichi et coll., 2008).

**En conclusion**, les différentes régions du rein ont des susceptibilités variables à l'ischémie. La partie externe du cortex est relativement plus tolérante à l'ischémie que la zone externe de la médullaire. Celle-ci est particulièrement exposée à l'ischémie à cause de la dépendance au métabolisme oxydatif de ses cellules et de la faible réserve en oxygène du milieu. Les cellules papillaires sont habituées constitutivement à vivre dans un milieu faiblement oxygéné et peuvent s'adapter à un métabolisme anaérobie. Ces constatations restent valables pour des durées limitées d'ischémie, mais lorsque la durée d'ischémie s'allonge, toutes les régions du rein vont être exposées (Silva, 1990 ; Simmons et coll., 2008).

Malgré une amélioration des performances des solutions de conservation pour limiter les lésions d'I/R, les pourcentages de non-fonction primaire du greffon et de reprise différée de fonction restent non négligeables. Les autres causes de non-fonction primaire du greffon rénal sont représentées par les complications chirurgicales, l'âge du donneur et du receveur (> 60 ans), un appariement HLA médiocre et une durée de prise en charge en dialyse supérieure à 6 ans.

À ces causes s'associent la durée de conservation et les lésions d'ischémie chaude et tiède (réchauffement de l'organe lors de la confection des anastomoses). Il existe également des situations favorisant la reprise différée de fonction des greffons comme l'âge du donneur ou la présence de lésions préexistantes, une durée d'ischémie froide prolongée (> 24 h), une ischémie chaude associée prolongée et un accident vasculaire à l'origine de la mort encéphalique.

Ces éléments soulignent le fait que la conservation hypothermique n'est pas totalement adaptée à la conservation des greffons rénaux. L'utilisation de donneurs limites liée à la pénurie d'organes et la perspective d'utiliser les organes des donneurs à cœur arrêté (ayant subi une ischémie chaude) amènent également à s'interroger sur la pertinence des moyens de conservation existants.

L'ischémie/reperfusion est à l'origine de mécanismes complexes ayant pour conséquences des modifications profondes au niveau des tissus exposés. La conservation de l'organe apparaît comme une étape primordiale durant l'I/R, au centre d'un processus plus complexe incluant le donneur et le receveur. Les avancées récentes dans la compréhension de cette pathologie soulignent le rôle prépondérant de la production d'espèces radicalaires et de l'inflammation probablement responsables de l'aggravation mais surtout de la persistance de cette pathologie. Des efforts sont à faire dans la compréhension des mécanismes en cause, imposant l'utilisation d'outils biologiques intégrés et de modèles adaptés. Il apparaît clair que les modèles cellulaires ont leur utilité (Rauen et De Groot, 2008) mais qu'ils doivent être associés à des modèles *in vivo*. L'utilisation de nouvelles sources de donneurs conforte ce constat. Il paraît intéressant d'observer et de collecter des informations sur les espèces ayant des comportements d'hibernants ou d'hivernants (Storey, 2004) pour améliorer la compréhension des mécanismes d'adaptation physiologique au stress engendré par l'ischémie. L'élucidation de ces mécanismes devrait permettre d'améliorer la conservation des organes et limiter les dommages engendrés par l'I/R. L'analyse des mécanismes en cause au cours de l'I/R par une approche intégrée associant des outils de génomique et protéomique devrait permettre d'identifier les cibles essentielles. L'utilisation des machines de perfusion semble être une voie également d'un intérêt majeur avec l'évaluation de la température de perfusion éventuellement avec une oxygénation des milieux. Ce moment de la perfusion est idéal pour l'évaluation des organes d'une part et l'utilisation d'additif(s) pharmacologique(s) d'autre part.

## BIBLIOGRAPHIE

AGARWAL A, MURDOCK P, FRIDELL JA. Comparison of Histidine-Tryptophan Ketoglutarate solution and University of Wisconsin solution in prolonged cold preservation of kidney allografts. *Transplantation* 2006, **81** : 480-482

AHLENSTIEL T, BURKHARDT G, KOHLER H, KUHLMANN MK. Bioflavonoids attenuates renal proximal tubular cell injury during cold preservation in Euro-Collins and University of Wisconsin solutions. *Kidney Int* 2003, **63** : 554-563

AHLENSTIEL T, BURKHARDT G, KOHLER H, KUHLMANN MK. Improved cold preservation of kidney tubular cells by means of adding bioflavonoids to organ preservation solution. *Transplantation* 2006, **81** : 231-239

AHMAD N, PRATT JR, POTTS DJ, LODGE JPA. Comparative efficacy of renal preservation solutions to limit functional impairment after warm ischemic injury. *Kidney Int* 2006, **69** : 884-893

ASCON DB, LOPEZ-BRIONES S, LIU M, ASCOU M, SAVRANSKY V, et coll. Phenotypic and functional characterization of kidney-infiltrating lymphocytes in renal ischemia reperfusion injury. *J Immunol* 2006, **177** : 3380-3387

AUGER S, VALLERAND D, HADDAD PS. Cold preservation-Warm reperfusion perturbs cytosolic calcium ion homeostasis in rat liver sinusoidal endothelial cells. *Liver Transplant* 2003, **9** : 150-159

BADET L, EUGENE M, HAUET T, BARROU B. L'utilisation des liquides de conservation en transplantation rénale. *Prog Urol* 2006, **16** : 25-31

BAICU SC, TAYLOR MJ, BROCKBAND KGM. The role of preservation solution on acid-base regulation during machine preservation of kidneys. *Clin Transplant* 2006, **20** : 113-121

BALDWIN C, CHEN ZW, BEDIRIAN A, YOKOTA N, NASR SH, et coll. Upregulation of EphA2 during in vivo and in vitro renal ischemia-reperfusion: role of Src Kinases. *Am J Physiol Renl Physiol* 2006, **291** : F960-F971

BASILE DP. The endothelial cell in ischemic acute kidney injury: implications for acute and chronic function. *Kidney Int* 2007, **72** : 151-156

BASILE DP, DONOHOE DL, ROEHTE K, OSBORN JL. Renal ischemic injury results in permanent damage to peritubular capillaries and influences long-term function. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001, **281** : F887-F899

BASILE DP, DONOHOE DL, ROEHTE K, MATTSON DL. Chronic renal hypoxia after acute ischemic injury : effects of L-arginine on hypoxia and secondary damage. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003, **284** : F338-F348

BAUZA G, LIMA L, LE MOYEC L, GANDJBAKHCH I, EUGÈNE M. 12-hour preservation of rat hearts with « fabrique d'implants et d'instruments » or University of Wisconsin oxygenated microperfused cardioplegic solution. *Transplant Proc* 1996, **28** : 2899

BEN ABDENNEBI H, STEGHENS JP, MARGONARI J, RAMELLA-VIRIEUX S, BARBIEUX A, BOILLOT O. High-Na<sup>+</sup> low-K<sup>+</sup> UW cold storage solution reduces reperfusion injuries of the rat liver graft. *Transpl Int* 1998, **11** : 223-230



BEN ABDENNEBI H, STEGHENS JP, HADJ-AISSA A, BARBIEUX A, RAMELLA-VIRIEUX S, et coll. A preservation solution with polyethylene glycol and calcium : a possible multiorgan liquid. *Transplant Int* 2002, **15** : 348-354

BESSEMS M, DOORSCHODT BM, DINANT S, DE GRAAF W, VAN GULIK TM. Machine perfusion preservation of the pig liver using a new preservation solution, *Polysol*. *Transplant Proc* 2006, **38** : 1238-1242

BLANKENSTEIJN JD, TERPSTRA OT. Liver preservation: the past and the future. *Hepatology* 1991, **13** : 1235-1250

BLYDT-HANSEN TD, KATORI M, LASSMAN C, KE B, COITO AJ, et coll. Gene transfer-induced local heme oxygenase-1 protects rat kidney transplants from ischemia/reperfusion injury. *J Am Soc Nephrol* 2003, **14** : 745-754

BOROS P, BROMBERG JS. New cellular and molecular immune pathways in ischemia/reperfusion injury. *Am J Transplant* 2006, **6** : 652-658

BOS EM, SCHUURS TA, KRAAN M, OTTENS PJ, VAN DEN EIJNDEN MM, et coll. Renal expression of heat shock proteins after brain death induction in rats. *Transplant Proc* 2005, **37** : 359-360

BOS EM, LEUVENINK HG, VAN GOOR H, PLOEG RJ. Kidney grafts from brain dead donors: Inferior quality or opportunity for improvement? *Kidney Int* 2007, **72** : 797-805

BRASILE L, STUBENITSKY BM, BOOSTER MH, ARENADA D, HAISCH C, KOOTSTRA G. Hypothermia-a limiting factor in using warm ischemically damaged kidneys. *Am J transplant* 2001, **1** : 316-320

BURNE-TANEY MJ, ASCON DB, DANIELS F, RACUSEN L, BALDWIN W, RABB H. B cell deficiency confers protection from renal ischemia reperfusion injury. *J Immunol* 2003, **171** : 3210-3215

BURNE-TANEY MJ, LIU M, BALDWIN WM, RACUSSEN L, RABB H. Decreased capacity of immune cells to cause tissue injury mediates kidney ischemic preconditioning. *J Immunol* 2006, **176** : 7015-7020

BURNS AT, DAVIES DR, MCLAREN AJ, CERUNDOLO L, MORRIS PJ, FUGGLE SV. Apoptosis in ischemia/reperfusion injury of human renal allografts. *Transplantation* 1998, **66** : 872-876

CASTANEDA MP, SWIATECKA-URBAN A, MITSNEFES MM, FEUERSTEIN D, KASKEL FJ, et coll. Activation of mitochondrial apoptosis pathways in human renal allografts after ischemia-reperfusion injury. *Transplantation* 2003, **76** : 50-54

CHEN W, BENNETT CF, CONDON TP, STECKER K, TIAN L, et coll. Methoxyethyl modification of phosphorothioate ICAM-1 antisense oligonucleotides improves prevention of ischemia/reperfusion injury. *Transplant Proc* 2001, **33** : 54

CHEN H, XING B, LIU X, ZHAN B, ZHOU J, et coll. Ischemic postconditioning inhibits apoptosis after renal ischemia/reperfusion injury in rat. *Transplant Int* 2007, **21** : 364-371

CHIEN CT, SHYUE SK, LAI MK. Bcl-xL augmentation potentially reduces ischemia/reperfusion induced proximal and distal tubular/apoptosis and autophagy. *Transplantation* 2007, **84** : 1183-1190

CICCO G, PANZERA PC, CATALANO G, MEMEO V. Microcirculation and reperfusion injury in organ transplantation. *Adv Exp Med Biol* 2005, **566** : 363-373

COCA SG, YALAVARTHY R, CONCATO J, PARIKH CR. Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney injury: a systematic review. *Kidney Int* 2008, **73** : 1008-1016

COFFEY AK, ANDREWS PM. Ultrastructure of kidney preservation: varying the amount of an effective osmotic agent in isotonic and hypertonic preservation solutions. *Transplantation* 1983, **35** : 136-143

CONNOLLY C, CAWLEY T, MCCORMICK PA, DOCHERTY JR. Portal hypertension increases vasoconstrictor responsiveness of rat aorta. *Clin Sci (Lond)* 1999, **96** : 41-47

CONTI A, SCALA S, D'AGOSTINA P, ALIMENTI E, MORELLI D, et coll. Wide gene expression profiling of ischemia-reperfusion injury in human liver transplantation. *Liver Transpl* 2007, **13** : 99-113

CROMPTON M. Bax, Bid and the permeabilization of the mitochondrial outer membrane in apoptosis. *Curr Opin Cell Biol* 2000, **12** : 414-419

CRUTHIRDS DL, NOVAK L, AKHI KM, SANDERS PW, THOMPSON JA, MACMILLAN-CROW LA. Mitochondrial targets of oxidative stress during renal ischemia/reperfusion. *Arch Biochem Biophys* 2003, **412** : 27-33

CRUZADO JM, TORRAS J, RIERA M, HERRERO I, HUESCO M, et coll. Influence of nephron mass in development of chronic renal failure after prolonged warm renal ischemia. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000, **279** : F259-F269

DE BOER J, DE MEESTER J, SMITS JMA, GROENEWOUD AF, BOK A, et coll. Eurotransplant randomized multicenter kidney graft preservation study comparing HTK with UW and Euro-Collins. *Transplant Int* 1999, **12** : 447-453

DEVARAJAN P. Cellular and molecular derangements in acute tubular necrosis. *Curr Opin Pediatr* 2005, **17** : 193-199

DONG X, SWAMINATHAN S, BACHMAN LA, CROATT AJ, NATH KA, GRIFFIN MD. Resient dendritic cells are the predominant TNF-secreting cell in early renal ischemia-reperfusion injury. *Kidney Int* 2007, **71** : 619-628

DOUCET C, MILIN S, FAVREAU F, DESURMONT T, MANGUY E, et coll. A p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor protects against renal damage in a non-heart beating donor model. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008, **295** : F179-F191. Epub 2008 Apr 30

DRAGUN D, HOFF U, PARK JK, QUN Y, SCHNEIDER W, et coll. Prolonged cold preservation augments vascular injury independent of renal transplantation immunogenicity and function. *Kidney Int* 2001, **60** : 1173-1181

DUTHEIL D, RIOJA-PASTOR I, TALLINEAU C, GOUJON JM, HAUET T, et coll. Protective effect of PEG 35,000 Da on renal cells: paradoxical activation of JNK signaling pathway during cold storage. *Am J Transplant* 2006, **6** : 1529-1540

EUGENE M, BAUZA G, ESTEVES-LIMA L, LE MOYEC L, GANDBAKHCH I. High-energy phosphate and ventricular function in rat hearts during 12-hour continuous microperfusion at 4°C : effect of oxygenation. *Transplant Proc* 1997, **29** : 2358-2359

FAURE JP, JAYLE C, DUTHEIL D, EUGENE M, ZHANG K, et coll. Evidence for protective roles of polyethylene glycol plus high sodium solution and trimetazidine against consequences of renal medulla ischaemia during cold preservation and reperfusion in pig kidney model. *Nephrol Dial Transplant* 2004a, **19** : 1742-1751

FAURE JP, PETIT I, ZHANG K, DUTHEIL D, DOUCET C, et coll. Protective roles of polyethylene glycol and trimetazidine against cold ischemia and reperfusion injuries of pig kidney graft. *Am J Transplant* 2004b, **4** : 495-504

FELDMANN G, HAOUZI D, MOREAU A, DURAND-SCHNEIDER AM, et coll. Opening of the mitochondrial permeability transition pore causes matrix expansion and outer membrane rupture in Fas-mediated hepatic apoptosis in mice. *Hepatology* 2000, **31** : 674-683

FENG L, ZHAO N, YAO X, SUN X, DU L, et coll. Histidine-tryptophane-ketoglutarate solution vs University of Wisconsin solution for liver transplantation : a systematic review. *Liver Transpl* 2007, **13** : 25-36

FISER SM, KRON IL, LONG SM, KAZA AK, KERN JA, CASSADA DC, et coll. Influences of graft ischemic time on outcomes following lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2001, **20** : 1291-1296

FITTON TP, BARREIRO CJ, BONDE PN, WEI C, CAGE F, et coll. Attenuation of DNA damage in canine hearts preserved by continuous hypothermic perfusion. *Ann Thor Surg* 2005, **80** : 1812-1820

FORTIN A, CREGAN SP, MACLAURIN JG, KUSHWAHA N, HICKMAN ES, et coll. APAF1 is a key transcriptional target for p53 in the regulation of neuronal cell death. *J Cell Biol* 2001, **155** : 207-216

FULLER BJ, LEE CY. Hypothermic perfusion preservation: the future of organ preservation revisited? *Cryobiology* 2007, **54** : 129-145

FULLER BJ, SHUREY C, LANE N, PETRENKO A, GREEN C. Hypothermic renal preservation with a sucrose/polyethylene glycol solution in a rabbit renal transplant model. *CryoLetter* 2006, **27** : 127-132

FURUICHI K, WADA T, KANEKO S, MURPHY PM. Roles of chemokines in renal ischemia/reperfusion injury. *Front Biosci* 2008, **13** : 4021-4028

GEUKEN E, BUIS CI, KATORI M, LASSMAN C, KE B, et coll. Expression of heme-oxygenase-1 in human livers before transplantation correlates with graft injury and function after transplantation. *Am J Transplant* 2005, **5** : 1875-1885

GOKINA NI, BEVAN JA. Role of intracellular Ca(2+) release in histamine-induced depolarization in rabbit middle cerebral artery. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000, **278** : H2105-H2114

GOLL DE, THOMPSON VF, LI H, WEI W, CONG J. The calpain system. *Physiol Rev* 2003, **83** : 731-801

GOTTMANN U, BRINKKOETTER PT, BECHTLER M, HOEGER S, KARLE C, et coll. Effect of pre-treatment with catecholamines on cold preservation and ischemia/reperfusion-injury in rat. *Kidney Int* 2006, **70** : 321-328

GREIG PD, WOOLF GM, ABECASSIS M, FORSTER J, STRASBERG SM, et coll. Prostaglandin E1 for primary nonfunction following liver transplantation. *Transplant Proc* 1989, **21** : 3360-3361

HAASE VH. Hypoxia-inducible factors in the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006, **291** : F271-F281

HAUET T, EUGENE M. A new approach in organ preservation: potential role of new polymers. *Kidney Int* 2008, **74** : 998-1003

HAUET T, GIBELIN H, RICHER JP, GODART C, EUGENE M, CARRETIER M. Influence of retrieval conditions on renal medulla injury: evaluation by proton NMR spectroscopy in an isolated perfused pig kidney model. *J Surg Res* 2000, **93** : 1-8

HAUET T, HAN Z, DOUCET C, RAMELLA-VIRIEUX S, HADJ AÏSSA A, et coll. A modified University of Wisconsin preservation solution with high-NA<sup>+</sup> low-K<sup>+</sup> content reduces reperfusion injury of the pig kidney graft. *Transplantation* 2003, **76** : 18-27

HAUSER P, SCHWARZ C, MITTERBAUER C, REGELE HM, MÜHLBAHER F, et coll. Genome-wide gene-expression patterns of donor kidney biopsies distinguish primary allograft function. *Lab Invest* 2004, **84** : 353-361

HERRERO F, MORALES D, BAAMONDE C, SALAS E, BERRAZUETA JR, CASANOVA D. Ischemic preconditioning and kidney transplantation: in vivo nitric oxide monitoring in a rat ischemia-reperfusion experimental model. *Transplant Proc* 2006, **38** : 2600-2602

HICKS M, HING A, GAO L, RYAN J, MACDONALD PS. Organ preservation. *Methods Mol Biol* 2006, **333** : 331-374

HIGGINS DF, KIMURA K, IWANO M, HAASE VH. Hypoxia-inucible factor signaling in the development of tissue fibrosis. *Cell Cycle* 2008, **7** : 1128-1132

HOSGOOD SA, BAGUL A, YANG B, NICHOLSON ML. The relative effects of warm and cold ischemic injury in an experimental model of nonheartbeating donor kidneys. *Transplantation* 2008, **85** : 88-92

HUANG H, SALAHUDEEN AK. Cold induces catalytic iron release of cytochrome P-450 origin : a critical step in cold storage-induced renal injury. *Am J transplant* 2002, **2** : 631-639

HUANG Y, RABB H, WOMER KL. Ischemia-reperfusion and immediate T responses. *Cell Immunol* 2007, **248** : 4-11

HUMPHREYS BD, VALERIUS MT, KOBAYASHI A, MUGFORD JW, SOEUNG S, et coll. Intrinsic epithelial cells repair the kidney after injury. *Cell Stem Cell* 2008, **2** : 284-291

JAMIESON RW, FRIEND PJ. Organ reperfusion and preservation. *Front Biosci* 2008, **13** : 221-235

JANG HS, KIM J, PARK YK, PARK KM. Infiltrated macrophages contribute to recovery after ischemic injury but not to ischemic preconditioning in kidneys. *Transplantation* 2008, **85** : 447-455

JASSEM W, HEATON ND. The role of mitochondria in ischemia/reperfusion injury in organ transplantation. *Kidney Int* 2004, **66** : 514-517

JASSEM W, FUGGLE SV, RELA M, KOO DD, HEATON ND. The role of mitochondria in ischemia/reperfusion injury. *Transplantation* 2002, **73** : 493-499

JAYLE C, FAVREAU F, ZHANG K, DOUCET C, GOUJON JM, et coll. Comparison of protective effects of trimetazidine against experimental warm ischemia of different durations: early and long-term effects in a pig kidney model. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007, **292** : F1082-F1093

JEREMIAS I, KUPATT C, MARTIN-VILLALBA A, HABAZETTL H, SCHENKEL J, et coll. Involvement of CD95/Apo 1/Fas in cell death after myocardial ischemia. *Circulation* 2000, **102** : 915-920

KAMINSKA D, TYRAN B, MAZANOWSKA O, RABCZYNSKI J, SZYBER P, et coll. Cytokine gene expression in kidney allograft biopsies after donor brain death and ischemia-reperfusion injury in situ reverse-transcription polymerase chain reaction analysis. *Transplantation* 2007, **84** : 1118-1124

KARAM G, COMPAGNON P, HOURMANT M, DESPINS P, DUVEAU D, et coll. A single solution for multiple organ procurement and preservation. *Transplant Int* 2005, **18** : 657-663

KE B, SHEN XD, GAO F, BUSSUTTIL RW, KUPIEC-WEGLINSKI JW. Interleukin 13 gene transfer in liver ischemia and reperfusion injury: role of Stat6 and TLR4 pathways in cytoprotection. *Hum Gen Ther* 2004, **15** : 691-698

KIERAN NE, RABB H. Immune responses in kidney preservation and reperfusion injury. *J Invest Med* 2004, **52** : 310-314

KIM JS, HE L, LEMASTERS JJ. Mitochondrial permeability transition : a common pathway to necrosis and apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2003, **304** : 463-470

KIM JS, HE L, QIAN T, LEMASTERS JJ. Role of the mitochondrial permeability transition in apoptotic and necrotic death after ischemia/reperfusion injury to hepatocytes. *Curr Mol Med* 2003, **3** : 527-535

KIRSHBOM PM, BRIDGES ND, MYUNG RJ, GAYNOR JW, CLARK BJ, SPRAY TL. Use of extracorporeal membrane oxygenation in pediatric thoracic organ transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002, **123** : 130-136

KO GJ, BOO CS, CHO WY, KIM HK. Macrophages contribute to the development of renal fibrosis following ischaemia/reperfusion induced acute kidney injury. *Nephrol Dial Transplant* 2008, **23** : 842-852

KOIKE N, TAKEYOSHI I, OHKI S, TOKUMINE M, MATSUMOTO K, MORISHITA Y. Effects of adding P38 mitogen-activated protein-kinase inhibitor to Celsior solution in canine heart transplantation from non-heart-beating donors. *Transplantation* 2004, **77** : 286-292

KOPPENOL WH. The Haber-Weiss cycle—70 years later. *Redox Report* 2001, **6** : 229-234

KOSIERADZKI M, KUCZYNSKA J, PIWOWARSKA J, WEGROWICZ-REBANDEL I, KWIATKOWSKI A, et coll. Prognostic significance of free radicals: mediated injury occurring in the kidney donor. *Transplantation* 2003a, **75** : 1221-1227

- KOSIERADZKI M, AMETANI M, SOUTHARD JH, MANGINO MJ. Is ischemic preconditioning of the kidney clinically relevant? *Surgery* 2003b, **133** : 81-90
- KRIBBEN A, WIEDER E, WETZELS J, YU L, GENGARO PE, et coll. Evidence for role of cytosolic free calcium in hypoxia-induced proximal tubule injury. *J Clin Invest* 1994, **93** : 1922-1929
- KURIAN SM, FLEHNER SM, KAOUK J, MODLIN C, GOLDFARB D, et coll. Laparoscopic donor nephrectomy gene expression profiling reveals upregulation of stress and ischemia associated genes compared to control kidneys. *Transplantation* 2005, **80** : 1067-1071
- LAM FT, MAVOR AI, POTTS DJ, GILES GR. Improved 72-hour renal preservation with phosphate-buffered sucrose. *Transplantation* 1989, **47** : 767-771
- LAND WG. The role of postischemic reperfusion injury and other nonantigen-dependent inflammatory pathways in transplantation. *Transplantation* 2005a, **79** : 505-514
- LAND WG. Injury to allografts: innate immunity pathways to acute and chronic rejection. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2005b, **16** : 520-539
- LEE P, SATA M, LEFER DJ, FACTOR SM, WALSH K, KITSIS RN. Fas pathway is a critical mediator of cardiac myocyte death and MI during ischemia-reperfusion in vivo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003, **284** : H456-H463
- LEONARD MO, KIERAN NE, HOWELL K, BURNE MJ, VARADARAJAN R, et coll. Reoxygenation-specific activation of the antioxidant transcription factor Nrf2 mediates cytoprotective gene expression in ischemia reperfusion injury. *Faseb J* 2006, **20** : 2624-2626
- LINDELL SL, COMPAGNON P, MANGINO MJ, SOUTHARD JH. UW solution for hypothermic machine perfusion of warm ischemic kidneys. *Transplantation* 2005, **79** : 1358-1361
- LOPEZ-NEBLINA F, TOLEDO AH, TOLEDO-PEREYRA LH. Molecular biology of apoptosis in ischemia and reperfusion. *J Invest Sur* 2005, **18** : 335-350
- LUCAS DA SILVA LB, BONINI PALMA PV, CURY PM, BUENO V. Evaluation of stem cell administration in a model of kidney ischemia-reperfusion injury. *Int Immunopharmacol* 2007, **7** : 1609-1616
- MA Q, DEVARAJAN P. Induction of proapoptotic Daxx following ischemic injury. *Kidney Int* 2008, **74** : 310-318
- MAATHUIS MH, LEUVENINK HGD, PLOEG RJ. Perspectives in organ preservation. *Transplantation* 2007a, **83** : 1289-1298
- MAATHUIS MHJ, MANEKELLER S, VAN DER PLAATS A, LEUVENINK HGD, 'T HART NA, et coll. Improved kidney graft function after preservation using a novel hypothermic machine perfusion device. *Ann Surg* 2007b, **246** : 982-991
- MAATHUIS MHJ, OTTENS PJ, VAN GOOR H, ZWAAGSTRA JJ, WIERSEMA-BUIST J, et coll. Static cold storage of ischemically damaged kidneys. A comparison between IGL-1 and UW solution. *Transplant Int* 2008, **21** : 473-482

MANGINO MJ, AMETANI M, SZABÓ C, SOUTHARD JH. Poly(ADP-ribose) polymerase and renal hypothermic preservation injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004, **286** : F838-F847

MANGINO MJ, TIAN T, AMETANI M, LINDELL S, SOUTHARD J. Cytoskeletal involvement in hypothermic renal preservation injury. *Transplantation* 2008, **85** : 427-436

MANNON RB. Therapeutic targets in the treatment of allograft fibrosis. *Am J Transplant* 2006, **6** : 867-875

MARTINEZ-GRANADOS B, MONLEÓN D, MARTINEZ-BISBAL MC, RODRIGO JM, DEL OLMO J, et coll. Metabolite identification in human liver needle biopsies by high-resolution magic angle spinning 1H NMR spectroscopy. *NMR Biomed* 2006, **19** : 90-100

MAS VR, ARCHER KJ, YANEK K, DUMUR CI, CAPPARUCCINI MI, et coll. Gene expression patterns in deceased donor kidneys developing delayed graft function after kidney transplantation. *Transplantation* 2008, **85** : 626-635

MATSUMOTO K, HONDA K, KOBAYASHI N. Protective effect of heat preconditioning of rat liver graft resulting in improved transplant survival. *Transplantation* 2001, **71** : 862-868

MATSUNO N, KONNO O, MEJIT A, JOYJIMA Y, AKASHI I, et coll. Application of machine perfusion preservation as a viability test for marginal kidney graft. *Transplantation* 2006, **82** : 1425-1428

MATSUOKA L, SHAH T, ASWAD S, BUNNAPRADIST S, CHO Y, et coll. Pulsatile perfusion reduces the incidence of delayed graft function in expanded criteria donor kidney transplantation. *Am J Transplant* 2006, **6** : 1473-1478

MCANULTY JF, REID TW, WALKER KR, MURPHY CJ. Successful six day kidney preservation using trophic factors supplemented media and simple cold-storage. *Am J Transplant* 2002, **2** : 712-718

MCLAREN A, FRIEND PJ. Trends in preservation. *Transplant Int* 2003, **16** : 701-708

MIKHALSKI D, WISSING KM, GHISDAL L, BROEDERS N, TOULY M, et coll. Cold ischemia is a major determinant of acute rejection and renal graft survival in the modern era of immunosuppression. *Transplantation* 2008, **85** (7 suppl) : S3-S9

MINOR T, SITZIA M, DOMBROWSKI F. Kidney transplantation from non-heart-beating donors after oxygenated low-flow machine perfusion preservation with histidine-tryptophan-ketoglutarate solution. *Transplant Int* 2005, **17** : 707-712

MORARIU AM, VD PLAATS A, V OEVEREN W, 'T HART NA, LEUVENINK HG, et coll. Hyperaggregating effect of hydroxyethyl starch components and University of Wisconsin solution on human red blood cells: a risk of impaired graft perfusion in organ procurement? *Transplantation* 2003, **76** : 37-43

MORIGI M, BENIGNI A, REMUZZI G, IMBERTI B. The regenerative potential of stem cells in acute renal failure. *Cell Transplant* 2006, **15** (suppl 1) : S111-S117

MORIN D, HAUET T, SPEDDING M, TILLEMENT J. Mitochondria as target for antiischemic drugs. *Adv Drug Deliv Rev* 2001, **49** : 151-174

MORROW JD, HARRIS TM, ROBERTS LJ. Non cyclooxygenase oxidative formation of a series of novel prostaglandins: analytical ramifications for measurement of eicosanoids. *Anal Biochem* 1990, **184** : 1-10 (erratum in *Anal Biochem* **186** : 184-185)

MORROW JD, MOORE KP, AWAD JA, RAVENSCRAFT MD, MARINI G, et coll. Marked overproduction of non-cyclooxygenase derived prostanoids (F2-isoprostanes) in the hepatorenal syndrome. *J Lipid Mediat* 1993, **6** : 417-420

MÜHLBACHER F, LANGER F, MITTERMAYER C. Preservation solutions for transplantation. *Transplant Proc* 1999, **31** : 2069-2070

NAKAJIMA A, UEDA K, TAKAOKA M, KURATA H, TAKAYAMA J, et coll. Effets of pre- and post-ischemic treatments with FK409, a nitric oxide donor, on ischemia/reperfusion-induced renal injury and endothelin-1 production in rats. *Biol Pharm Bull* 2006, **29** : 577-579

NICHOLSON ML, WHEATLEY TJ, HORSBURGH T, EDWARDS CM, VEITCH PS, BELL PR. The relative influence of delayed graft function and acute rejection on renal transplant survival. *Transpl Int* 1996, **9** : 415-419

NIEMINEN AL. Apoptosis and necrosis in health and disease: role of mitochondria. *Int Rev Cytol* 2003, **224** : 29-55

NIJBOER WN, SCHUURS TA, VAN DER HOEVEN JA FEKKEN S, WIERSEMA-BUIST J, et coll. Effect of brain death on gene expression and tissue activation in human donor kidneys. *Transplantation* 2004, **78** : 978-986

OJO AO, WOLFE RA, HELD PJ, PORT FK, SCHMOUDER RL. Delayed graft function: risk factors and implications for renal allograft survival. *Transplantation* 1997, **63** : 968-974

OPELZ G, DÖHLER B. Multicenter analysis of kidney preservation. *Transplantation* 2007, **83** : 247-253

ORGAN PROCUREMENT AND TRANSPLANTATION NETWORK, SCIENTIFIC REGISTRY OF TRANSPLANT RECIPIENTS, UNITED NETWORK FOR ORGAN SHARING. OPTN/SRTR UNOS Annual report 2002

PADANILAM BJ. Induction and subcellular localization of protein kinase C isozymes following renal ischemia. *Kidney Int* 2001, **59** : 1789-1797

PADANILAM BJ. Cell death induced by acute renal injury : a perspective on the contributions of apoptosis and necrosis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003, **284** : F608-F627

PARIKH CR, EDELSTEIN CL, DEVARAJAN P, CANTLEY L. Biomarkers of acute kidney injury: early diagnosis, pathogenesis, and recovery. *J Invest Med* 2007, **55** : 333-340

PEDOTTI P, CARDILLO M, RIGOTTI P, GERUNDA G, MERENDA R, et coll. A comparative prospective study of two available solutions for kidney and liver transplantation. *Transplantation* 2004, **77** : 1540-1545

PERICO N, CATTANEO D, SAYEGH MH, REMUZZI G. Delayed graft function in kidney transplantation. *The Lancet* 2004, **364** : 1814-1827

PIPER HM, GARCIA-DORADO D. Prime causes of rapid cardiomyocytes death during reperfusion. *Ann Thorac Surg* 1999, **68** : 1913-1919



PLOEG RJ, VAN BOCKEL JH, LANGENDIJK PT, GROENEWEGEN M, VAN DER WOUDE FJ, et coll. Effect of preservation solution on results of cadaveric kidney transplantation. The European Multicentre Study Group. *Lancet* 1992, **340** : 129-137

PLOEG RJ, D'ALESSANDRO AM, KNECHTLE SJ, STEGALL MD, PIRSCH JD, et coll. Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation-a multivariate analysis. *Transplantation* 1993, **55** : 807-813

POLYAK M, ARRINGTON B, STUDENBORD W, BOYKIN J, BROWN T, et coll. The influence of pulsatile preservation on renal transplantation in the 1990s. *Transplantation* 2000, **69** : 249-258

PRATSCHKE J, TULLIUS SG, NEUHAUS P. Brain death associated ischemia/reperfusion injury. *Ann Transplant* 2004, **9** : 78-80

PRATSCHKE J, WEISS S, NEUHAUS P, PASCHER A. Review of nonimmunological causes for deteriorated graft function and graft loss after transplantation. *Transplant Int* 2008, **21** : 512-522

RAMA I, BRUENE B, TORRAS J, KOEHL R, CRUZADO JM, et coll. Hypoxia stimulus: an adaptative immune response during dendritic cell maturation. *Kidney Int* 2008, **73** : 816-825

RAUEN U, DE GROOT H. Cold-induced release of reactive oxygen species as a decisive mediator of hypothermia injury to cultured liver cells. *Free Radic Biol Med* 1998, **24** : 1316-1323

RAUEN U, DE GROOT H. New insights into the cellular and molecular mechanisms of cold storage. *J Investig Med* 2004, **52** : 299-309

RAUEN U, DE GROOT H. Inherent toxicity of organ preservation solutions to cultured hepatocytes. *Cryobiology* 2008, **56** : 88-92

RAUEN U, ELLING B, GIZEWSKI ER, KORTH HG, SUSTMANN R, DE GROOT H. Involvement of reactive oxygen species in the preservation injury to cultured liver endothelial cells. *Free Radic Biol Med* 1997, **22** : 17-24

ROSSER BG, GORES GJ. Liver cell necrosis: cellular mechanisms and clinical implications. *Gastroenterology* 1995, **108** : 252-275

SALAHUDEEN AK. Cold ischemic injury of transplanted kidneys: new insights from experimental studies. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004, **287** : 181-187

SALAHUDEEN AK, NAVAZ M, POOVALA V, WANG C, KANJI V, et coll. Cold storage induces time-dependent F2-isoprostane formation in renal tubular cells and rat kidneys. *Kidney Int* 1999, **55** : 1759-1762

SALAHUDEEN AK, HUANG H, PATEL P, JENKINS JK. Mechanism and prevention of cold storage-induced human renal tubular cell injury. *Transplantation* 2000, **70** : 1424-1431

SALAHUDEEN AK, JOSHI M, JENKINS AK. Apoptosis versus necrosis during cold storage and rewarming of human renal proximal tubular cells. *Transplantation* 2001, **72** : 798-804

SALAHUDEEN AK, HUANG H, JOSHI M, MOORE NA, JENKINS JK. Involvement of the mitochondrial pathway in cold storage and rewarming associated apoptosis of human renal proximal tubular cells. *Am J Transplant* 2003, **3** : 273-280

SAVRANSKI V, MOLLS RR, BURNE-TANEY M, CHIEN CC, RACUSEN L, RABB H. Role of T-cell receptor in kidney ischemia-reperfusion injury. *Kidney Int* 2006, **69** : 233-238

SCHUURS TA, GERBENS F, VAN DER HOEVEN JA, OTTENS PJ, KOOI KA, et coll. Distinct transcriptional changes in donor kidneys upon brain death induction in rats: insights in the processes of brain death. *Am J Transplant* 2004, **4** : 1972-1981

SCHWARZ C, OBERBAUER R. The influence of organ donor factors on early allograft function. *Curr Opin Urol* 2003, **13** : 99-104

SERKOVA N, FLORIAN FULLER T, KLAWITTER J, FREISE CE, NIEMANN CU. 1H-NMR-based metabolic signatures of mild and severe ischemia/reperfusion injury in rat kidney transplants. *Kidney Int* 2005, **67** : 1142-1151

SHAW BW JR, GORDON RD, IWATSUKI S, STARZL TE. Retransplantation of the liver. *Semin Liver Dis* 1985, **5** : 394-401

SHERIDAN AM, BONVENTRE JV. Cell biology and molecular metabolism of injury in ischemic acute renal failure. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2000, **9** : 427-434

SHIYA N, PAUL M, BENVENUTI C, ASTIER A, FERRER MJ, LOISANCE D. A lactobionate-based extracellular-type solution for donor heart preservation. *J Heart Lung Transplant* 1993, **12** : 476-483

SILVA P. Energy and fuel substrate metabolism in the kidney. *Semin Nephrol* 1990, **10** : 432-444

SIMMONS MN, SCREIBER MJ, GILL IS. Surgical renal ischemia: a contemporary overview. *J Urol* 2008, **180** : 19-30

SOUTHARD JH, BELZER FO. Organ preservation. *Annu Rev Med* 1995, **46** : 235-247

STOREY KB. Cold ischemic organ preservation : lessons from natural systems. *J Invest Med* 2004, **52** : 315-322

SUMIMOTO R, KAMADA N, JAMIESON NV, FUKUDA Y, DOHI K. A comparison of a new solution combining histidine and lactobionate with UW solution and eurocollins for rat liver preservation. *Transplantation* 1991, **51** : 589-593

SZETTO HH. Mitochondria-targeted cytoprotective peptides for ischemia-reperfusion injury. *Antioxid Redox Signal* 2008, **10** : 601-619

TAKAHASHI K, NAMMOUR TM, FUKUNAGA M, EBERT J, MORROW JD, et coll. Glomerular actions of a free radical-generated novel prostaglandin, 8-epi-prostaglandin F2 alpha, in the rat. Evidence for interaction with thromboxane A2 receptors. *J Clin Invest* 1992, **90** : 136-141

TANAKA H, TERADA Y, OKADO T, INOSHITA S, KUWAHARA M, SASAKI S. Role of the E2F1-p19ARF-p53 pathway in ischemic acute renal failure. *Nephron Physiol* 2005, **101** : 27-34

URUSHIHARA T, SUMIMOTO R, SUMIMOTO K, JAMIESON NV, ITO H, et coll. A comparison of some simplified lactobionate preservation solutions with standard UW solution and Eurocollins solution for pancreas reseration. *Transplantation* 1992, **53** : 750-754

VACANTI JP, LILLEHEI CW, JENKINS RL, DONAHOE PK, COSIMI AB, et coll. Liver transplantation in children: the Boston Center experience in the first 30 months. *Transplant Proc* 1987, **19** : 3261-3266

VAN DER PLAATS A, 'T HART NA, MORARIU AM, VERKERKE GJ, LEUVENINK HG, et coll. Effect of University of Wisconsin organ-preservation solution on haemorheology. *Transpl Int* 2004, **17** : 227-233

VINUESA E, HOTTER G, JUNG M, HERRERO-FRESNEDA I, TORRAS J, SOLA A. Macrophage involvement in the kidney repair phase after ischaemia/reperfusion injury. *J Pathol* 2008, **214** : 104-113

WALLER HL, HARPER SJF, HOSGOOD SA, BAGUL A, KAY MD, et coll. Differential expression of cytoprotective and apoptotic genes in an ischemia-reperfusion isolated organ perfusion model of the transplanted kidney. *Transplant Int* 2007, **20** : 625-631

WEISS S, KOTSCH K, FRANCUSKI M, RUTZEL-SELKE A, MANTOUVALOU L, et coll. Brain death activates donor organs and is associated with a worse I/R injury after liver transplantation. *Am J Transplant* 2007, **7** : 1584-1593

WEISS-SALZ I, MANDEL M, GALAL N, NAVE I, SONER G, et coll. Factors associated with primary and secondary graft failure following cadaveric kidney transplant. *Clin Transplant* 2004, **18** : 571-575

WILLE T, DE GROOT H, RAUEN U. Improvement of the cold storage of blood vessels with a vascular preservation solution. Study in porcine aortic segments. *J Vasc Surg* 2008, **47** : 422-431

WISHART DS. Metabolomics in monitoring kidney transplants. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2006, **15** : 637-642

YOSHINARI D, TAKEYOSHI I, KOBAYASHI M, KOYAMA T, IJIMA K, et coll. Effects of a p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor as an additive to University of Wisconsin solution on reperfusion injury in liver transplantation. *Transplantation* 2001, **72** : 22-27

ZHENG X, ZHANG X, SUN H, FENG B, LI M, et coll. Protection of renal ischemia injury using combination gene silencing of complement 3 and caspase 3 genes. *Transplantation* 2006, **82** : 1781-1786

## 8

## Syndrome d'ischémie/reperfusion et préservation en transplantation hépatique

Les lésions hépatiques d'ischémie/reperfusion (I/R) représentent un processus complexe et multifactoriel dans lequel de multiples médiateurs et diverses cellules interagissent entraînant des lésions qui peuvent aboutir à la mort cellulaire. Cette cascade d'événements implique à la fois la microvasculature (cellules endothéliales sinusoidales ou CES), le parenchyme (hépatocytes) et les canalicules biliaires (cholangiocytes).

Le foie peut être exposé à 3 types d'ischémie au cours du processus de transplantation :

- l'ischémie froide (IF) est intentionnellement appliquée pour réduire l'activité métabolique du greffon avant son implantation et sa reperfusion chez le receveur. Les cellules non parenchymateuses (CES, cellules de Kupffer, cellules de Ito et épithélium biliaire) sont plus spécifiquement touchées par l'IF qui conduit à une réduction de la phosphorylation oxydative, une baisse des concentrations cellulaires en ATP et une augmentation de la glycolyse (Churchill et coll., 1994). En dépit des modifications structurelles majeures, les cellules non parenchymateuses restent en vie au cours de l'IF (Ikeda et coll., 1992) ;
- l'ischémie chaude peut être rencontrée au cours du prélèvement en cas de donneur hémodynamiquement instable. Les cellules parenchymateuses sont plus sensibles à ce type d'ischémie au cours de laquelle le stress oxydant et la dysfonction mitochondriale prédominent (Mochida et coll., 1994 ; Schön et coll., 1998) ;
- l'ischémie chaude relative (ou « *rewarming* ») est typiquement rencontrée durant la période d'implantation du greffon (exposition à la température corporelle au cours de la confection des anastomoses vasculaires et manipulation du greffon). L'impact de cette phase de réchauffement sur l'intégrité structurelle du foie et les mécanismes sous-tendant les lésions induites sont mal appréhendés. Il s'agit probablement d'une combinaison de lésions d'ischémie froide et chaude. Quel que soit le type d'agression ischémique, les lésions hépatiques sont initiées au cours de la phase ischémique mais ne

s'expriment qu'après la reperfusion, avec l'apport en oxygène et la réintroduction des éléments sanguins.

Quel que soit le type d'agression ischémique, les lésions hépatiques sont initiées au cours de la phase ischémique mais ne s'expriment qu'après la reperfusion, avec l'apport en oxygène et la réintroduction des éléments sanguins.

## **Ischémie froide et conséquences délétères**

L'hypothermie constitue le principe de base de la conservation des organes (Belzer et Southard, 1988). La baisse de la température aux alentours de 4°C réduit de 95 % les besoins en oxygène des cellules, et adapte leur métabolisme à la situation d'anoxie dans laquelle les plonge le prélèvement. Le ralentissement des dépenses énergétiques ne rend pas complètement compte de l'effet bénéfique de l'hypothermie. En effet, la plupart des organes conservés en IF perdent plus de 90 % de leur stock d'ATP en moins de 4 heures, sans pour autant que leur viabilité ne soit compromise après un jour ou plus de conservation dans de bonnes conditions. En fait, l'hypothermie semble être surtout effective en bloquant partiellement l'activité des nombreuses enzymes hydrolytiques (phospholipases, protéases ou endonucléases...). Cette inhibition va ainsi limiter la destruction d'éléments structurels très importants (microtubules, membrane du cytosquelette, protéines, acides nucléiques...) et permettre à l'organe de rétablir un contrôle métabolique lorsqu'il sera transplanté, c'est-à-dire réchauffé et reperfusé. D'après la règle de Van't Hoff's, on estime que le refroidissement de l'organe de 37°C à environ 4°C réduit les activités enzymatiques plus de 10 fois (Fuller, 1991).

Bien que fondamental, le refroidissement des organes a également des conséquences délétères pour les tissus, au niveau desquels plusieurs voies métaboliques vont être affectées : inhibition de la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase, réduction rapide des réserves en ATP, troubles de l'homéostasie du calcium, altérations structurelles du cytosquelette et acidose intracellulaire.

### **Pompe $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPase**

L'inhibition de l'enzyme membranaire  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase (à partir de 18°C) entraîne une redistribution ionique source d'œdème cellulaire (Martin et coll., 1972).

### **Réserves d'ATP**

L'absence de perfusion et surtout l'anoxie conduisent à un épuisement rapide des réserves énergétiques (Clavien et coll., 1992). La synthèse d'ATP

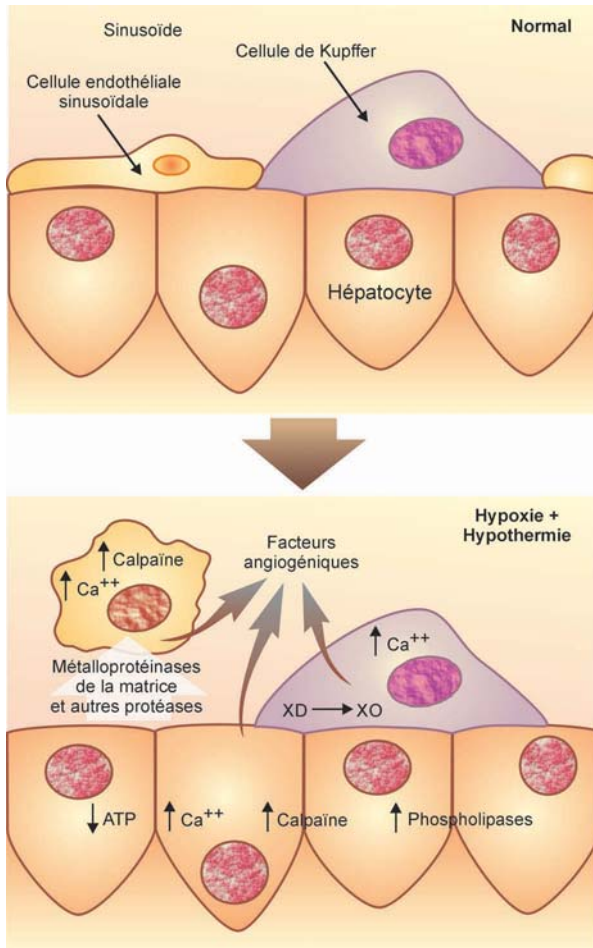
n'est plus assurée par la phosphorylation oxydative mais par la glycolyse anaérobie dont le rendement est très inférieur. Ce déficit énergétique accélère le processus inévitable de dégradation structurelle et fonctionnelle des organes privés d'oxygène (Lang et coll., 1995). En situation clinique, Lanir et coll. (1988) ont montré une corrélation directe entre un taux élevé d'ATP tissulaire avant implantation et la fonction hépatique chez le receveur. Pour Kamiike et coll. (1988), le pool tissulaire de nucléotides adényliques totaux en fin de conservation refléterait encore plus étroitement la viabilité du greffon hépatique, cette dernière étant fortement dépendante de la capacité du greffon à re-synthétiser l'ATP après reperfusion. Quoiqu'il en soit, la restauration des taux d'ATP après IF impose : la préservation de l'intégrité mitochondriale, c'est-à-dire de la « machinerie énergétique » ; des taux suffisants en précurseurs nécessaires à la régénération d'ATP ; une réoxygénation appropriée au cours de la reperfusion (Vajdova et coll., 2002). Les lésions mitochondriales engendrées par l'hypothermie expliquent en partie l'incapacité des cellules hépatiques à recouvrer une bonne fonction après transplantation (Ohkohchi et coll., 1999). L'intégrité de la membrane mitochondriale est en effet essentielle pour permettre la phosphorylation oxydative. Au cours de l'I/R hépatique, la transition de la perméabilité membranaire mitochondriale (MPT), qui est due à une augmentation rapide de la perméabilité de la membrane interne de la mitochondrie, est à l'origine d'une augmentation du contenu intracellulaire en calcium et radicaux libres (Lemasters et coll., 1998). L'équipe de Belzer a montré que la respiration mitochondriale était surtout affectée en cas d'IF prolongée (Kim et coll., 1992).

### Homéostasie du calcium

La dysfonction de la pompe  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase et de l'échangeur  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  ainsi que la dépolarisation membranaire (secondaire à la défaillance de la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ) contribuent à l'accumulation intracytoplasmique d'ions  $\text{Ca}^{2+}$ . De plus, la perturbation de l'homéostasie sodique et la diminution du pH intracellulaire augmentent le calcium libre cytosolique (Clavien et coll., 1992 ; Gasbarrini et coll., 1992). Ces troubles de l'homéostasie du calcium provoquent l'activation d'enzymes catabolisantes  $\text{Ca}^{2+}$ -dépendantes (phospholipases, protéases) pouvant léser les structures membranaires. Ces lésions accentuent la dysfonction mitochondriale, dysfonction qui entrave la reprise de fonction du greffon lors de la reperfusion (Pruzanski et Vadas, 1991 ; Kim et Southard, 1998). L'augmentation de calcium libre potentialise également la production de radicaux libres qui s'attaquent directement aux protéines transporteuses des membranes cellulaires et du réticulum, et aux membranes elles-mêmes. La perméabilité aux ions est accrue, accentuant encore le déséquilibre homéostatique (Clavien et coll., 1992).

## Cytosquelette

D'importantes modifications structurelles du cytosquelette aboutissent à la dislocation des CES (Otto et coll., 1984). Ces dernières s'arrondissent, se détachent et font saillie dans la lumière sinusoidale (figure 8.1).



**Figure 8.1 : Mécanismes lésionnels au cours de l'ischémie froide (d'après Clavien, 1998)**

XD : xanthine déshydrogénase ; XO : xanthine oxydase

Le degré de détachement de ces CES serait corrélé avec la durée de l'IF, les lésions observées déterminant en partie la viabilité du greffon (Caldwell-Kenkel et coll., 1988 ; McKeown et coll., 1988 ; Holloway et coll., 1990 ; Clavien et coll., 1992 ; Gao et coll., 1998). Les modifications morphologiques résulteraient d'un processus protéolytique actif, pouvant être déclenché par des médiateurs

angiogéniques (VEGF, bFGF ou HGF), et qui aboutit à la digestion de la matrice extracellulaire périsinusoidale (Folkman, 1995 ; Hioki et coll., 1996 ; Gao et coll., 1997). Les médiateurs angiogéniques seraient générés essentiellement par les cellules de Kupffer (CK), les CES et les cellules étoilées (Winwood et coll., 1995 ; Upadhy et coll., 1997 ; Benyon et Arthur, 2001). Le rôle central de certaines protéases (métallo- et aspartate-protéinases) a été confirmé par d'autres équipes soutenant cette « théorie de l'angiogénèse » (Takei et coll., 1990 ; Ferguson et coll., 1993). En situation clinique, Calmus et coll. (1995) puis Upadhy et coll. (1997) ont montré le rôle majeur de cette protéolyse dans les mécanismes lésionnels de conservation en hypothermie, et la corrélation entre le degré d'activité protéolytique et la fonction post-opératoire du greffon.

### Acidose

L'hypothermie entraîne également une acidose métabolique, essentiellement due à la glycolyse anaérobie (accumulation de lactates et augmentation de la concentration en ion hydrogène) (Belzer et Southard, 1988). L'hydrolyse de l'ATP participe largement à cette accumulation de protons dans le cytoplasme (Gores et coll., 1989). Le processus de dégradation autolytique est alors activé (Wattiaux et Wattiaux-De Coninck, 1984).

## Lésions de reperfusion hépatique : mécanismes cellulaires et moléculaires

Les lésions de reperfusion constituent à la fois une conséquence et une amplification des phénomènes d'activation et de dommages cellulaires occasionnés au cours de l'ischémie.

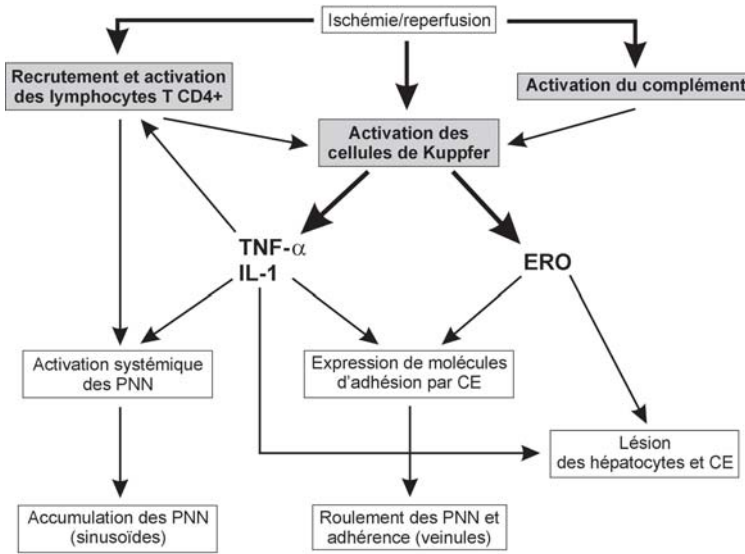
Ce processus lésionnel s'exprime en deux phases distinctes :

- la phase précoce (3 à 6 heures après la reperfusion, figure 8.2) se caractérise par l'activation des cellules de Kupffer (Jaeschke et Farhood, 1991). L'activation du complément tout comme le recrutement et l'activation des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> interviennent dans l'activation de ces cellules de Kupffer (Jaeschke et coll., 1993a ; Jaeschke, 2003). Les cellules de Kupffer activées vont induire d'une part un stress oxydant avec formation intravasculaire d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et d'autre part la production de cytokines pro-inflammatoires, en particulier le TNF- $\alpha$ , et IL-1 (Lentsch et coll., 2000). Les ERO et les cytokines sont à l'origine de lésions hépatocellulaires et endothéliales. La libération des cytokines entraîne dans le même temps une augmentation de l'expression des molécules d'adhésion par les cellules endothéliales et stimule également la production de chimiokines, réactions qui vont déclencher le recrutement massif de polynucléaires neutrophiles (PNN) ;

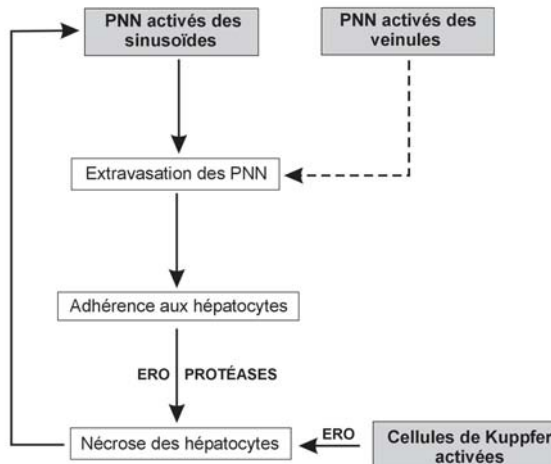


- la phase tardive ou subaiguë (> 6 heures après la reperfusion, figure 8.2) est essentiellement dominée par l'activation des PNN qui s'accablent dans les veinules sinusoidales et post-sinusoidales (Jaeschke, 2000). Il s'ensuit une extravasation des PNN qui vont libérer leurs propres radicaux libres et protéases à l'origine de lésions parenchymateuses.

**Phase précoce**



**Phase tardive**



**Figure 8.2 : Mécanismes lésionnels et initiation de la réponse inflammatoire au cours des phases précoce et tardive de la reperfusion (d'après Jaeschke, 2003)**

CE : cellules endothéliales ; ERO : espèces réactives de l'oxygène ; IL-1 : interleukine-1 ; PNN : polynucléaires neutrophiles ; TNF-α : *Tumor Necrosis Factor α*.

## Stress oxydant

Entre autres manifestations, l'activation des cellules de Kupffer va s'accompagner de la production massive d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Jaeschke, 2000).

Les ERO sont impliquées dans de nombreux processus physiologiques, incluant la production d'ATP dans la mitochondrie, la dégradation des protéines et des lipides, ainsi que les réactions inflammatoires. Dans des conditions physiologiques, les cellules ont développé des mécanismes leur permettant de contrôler cette production intracellulaire de ERO et ce, grâce à une famille d'enzymes capables de dégrader et/ou métaboliser ces molécules actives en composants non toxiques. Cependant, une agression ischémique prolongée peut établir les conditions propices à la formation en quantité abondante de ces radicaux libres lors de la réoxygénation de l'organe. C'est le « paradoxe de l'oxygène ». L'apport massif d'O<sub>2</sub> aboutit à la surproduction de ERO dépassant totalement les capacités de neutralisation par les systèmes enzymatiques antioxydants. Ces molécules réactives peuvent alors exercer leur rôle délétère sur les phospholipides et protéines membranaires.

### *Production des espèces réactives de l'oxygène*

Il existe plusieurs systèmes de production des ERO : altération de la chaîne de transport des électrons de la mitochondrie ; activation du système de la xanthine-oxydase (Jaeschke, 2002a) ; système enzymatique NADPH oxydase-dépendant ; activation de la voie de la cyclo-oxygénase (métabolisme de l'acide arachidonique) mais aussi d'autres sources de ERO.

Les mitochondries représentent le compartiment cellulaire majeur de production et de consommation d'énergie. Dans la chaîne respiratoire mitochondriale, des radicaux sont libérés lors de la réduction monovalente de l'oxygène en eau (Menasche et Piwnica, 1989). En situation physiologique, 1 à 3 % de l'oxygène métabolisé dans la mitochondrie est converti en radical anion superoxyde O<sub>2</sub><sup>-°</sup> (Nohl et coll., 2003). Cette chaîne de transport des électrons au niveau des mitochondries est perturbée par l'anoxie. Lors de la reperfusion, le découplage de la chaîne respiratoire va conduire à une production intra-cytoplasmique excessive de ERO (en particulier d'anion superoxyde O<sub>2</sub><sup>-°</sup>).

Pendant l'ischémie, l'ATP est dégradé dans la cellule en ADP, puis AMP. Ce dernier franchit la membrane cellulaire pour être métabolisé dans le milieu extracellulaire en adénosine puis en hypoxanthine. Parallèlement, l'hypoxie active des enzymes protéolytiques qui vont convertir la xanthine déshydrogénase en xanthine oxydase (XO). Lors de la reperfusion, la concentration élevée de XO (en particulier dans les CES) va catalyser la réaction entre l'hypoxanthine accumulée et l'oxygène moléculaire, aboutissant à la production d'acide urique et de l'anion superoxyde. Ce dernier peut alors

interagir avec le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) pour former le radical hydroxyle  $^{\circ}OH$  (Le Moine et coll., 1998).

Le système enzymatique NADPH oxydase-dépendant présent à la surface de la membrane des PNN représente une autre source importante dans la formation des ERO (Anderson et coll., 1991). Il réduit l'oxygène moléculaire en anion superoxyde ( $O_2^{-\circ}$ ) et peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). En présence d'ion chlorure et de l'enzyme myéloperoxydase, l' $H_2O_2$  est transformée en acide hypochlorique, toxique pour la cellule, puis en monochloramine. La membrane cellulaire est perméable à ce dernier composant qui pourra s'attaquer à la membrane de certains organites intracellulaires et aux protéines.

L'activation de la phospholipase A2 (suite à l'augmentation du calcium intracellulaire) libère l'acide arachidonique à partir des phospholipides membranaires. Il s'en suit la formation de prostaglandines (PG G2) avec libération concomitante de radicaux libres. En favorisant le chimiotactisme des PNN, la libération des enzymes microsomiales et l'agrégation plaquettaire, les PG G2 peuvent aggraver les lésions de reperfusion.

Enfin, il existe d'autres sources de ERO :

- les peroxysomes représentent 10 à 30 % de la consommation totale d'oxygène dans le foie. Des systèmes de production de ERO (XO et cytochrome p450) tout comme des enzymes antioxydantes telles que Cu/ZnSOD sont localisés dans les peroxysomes. Ces organites sont abondants dans le foie et pourraient jouer un rôle significatif dans la modulation de l'état d'oxydo-réduction de la cellule (Pahan et coll., 1997) ;
- l'auto-oxydation des catécholamines (adrénaline, noradrénaline et isoprénaline) (Bors et coll., 1978) serait également impliquée. Cette réaction libère des électrons qui, captés par l'oxygène moléculaire lors de la reperfusion, engendrent la formation de ERO ;
- le monoxyde d'azote participe à la formation des ERO en se combinant à l'anion superoxyde.

### ***Stress oxydant et lésions hépatiques***

Les mécanismes lésionnels moléculaires sous-tendant les dommages hépatocellulaires ont fait l'objet de discussions très controversées au cours des 20 dernières années (figure 8.2). Initialement, il était établi que le stress oxydant post-ischémique conduit à la mort cellulaire par peroxydation lipidique. Cependant, la peroxydation des stéroïdes membranaires apparaît insuffisante pour expliquer la sévérité des lésions cellulaires occasionnées par la reperfusion (Jaeschke, 2003). Pour certains auteurs, des enzymes protéolytiques libérées par les cellules inflammatoires telles que les PNN pourraient également représenter des médiateurs cytotoxiques essentiels. L'effet bénéfique d'inhibiteurs de protéases, observé à la fois dans des modèles expérimentaux (Li et coll., 1993) et en clinique (Kim et coll., 2002), plaide en faveur de cette hypothèse. Weiss (1989) ont suggéré que les ERO ne

seraient pas directement responsables de lésions cellulaires mais inactive-raient des anti-protéases plasmatiques par oxydation. Cependant, des études plus récentes semblent indiquer clairement que les cellules de Kupffer (Bilzer et coll., 1999) et les PNN (Jaeschke et coll., 1999) peuvent conduire à la mort des hépatocytes par l'intermédiaire des ERO. Cette destruction cellulaire impliquerait l'oxydation des acides nucléiques, l'accumulation de calcium dans la mitochondrie et la production de l'anion superoxyde par la mitochondrie. Ces réactions conduiraient finalement à l'ouverture des pores de transition de la perméabilité membranaire des mitochondries (MPT) et à l'effondrement du potentiel membranaire (Nieminen et coll., 1997).

Jaeschke propose deux mécanismes lésionnels au cours de la phase tardive de la reperfusion post-ischémique (Jaeschke, 2003) (figure 8.2). En cas d'agres-sion aiguë et massive par les cellules de Kupffer et les PNN, les ERO seraient responsables de l'ensemble des dommages observés. En revanche, en cas de réaction inflammatoire prolongée (plusieurs jours), les lésions tissulaires pourraient faire intervenir à la fois les ERO et les enzymes protéolytiques.

En plus de l'inactivation d'anti-protéases et d'effets cytotoxiques directs, les ERO peuvent promouvoir des lésions de reperfusion par la stimulation de facteurs de transcription tels que le NF- $\kappa$ B (*Nuclear Factor- $\kappa$ B*) (Fan et coll., 1999). Il s'en suivrait une augmentation de l'expression des gènes codant pour le TNF- $\alpha$ , la NO synthase inductible (iNOS), l'hème oxygénase-1, les chimiokines CXC et diverses molécules d'adhésion. Plusieurs travaux ont d'ailleurs montré que les antioxydants pouvaient atténuer l'expression de ces gènes pro-inflammatoires via l'inhibition de NF- $\kappa$ B et AP-1 (Essani et coll., 1997a ; Zwacka et coll., 1998).

### **Mécanismes d'adaptation cellulaire**

La nature a développé divers mécanismes qui détectent l'oxygénation tissulaire et qui déclenchent des voies de signalisation protectrices, permettant aux cellules de survivre dans des conditions extrêmes d'oxydo-réduction.

Le complexe factoriel-1 inductible par l'hypoxie (HIF-1) représente l'un des facteurs de transcription impliqué dans cette adaptation cellulaire à une agression hypoxique. Ce complexe est formé de deux sous-unités HIF-1a (constitutive) et HIF-1b (inductible). Dans des conditions hypoxiques, la protéine HIF-1a est stabilisée et HIF-1b est induite, réaction autorisant la formation du complexe fonctionnel HIF-1 qui régule la transcription d'une variété de gènes incluant l'érythropoïétine, le VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), la tyrosine hydroxylase, iNOS, ainsi que des enzymes glycolytiques (Bunn et Poyton, 1996). La plupart de ces gènes sont impliqués dans de multiples mécanismes physiologiques qui contribuent au maintien de l'homéostasie de l'oxygène, tels que l'érythropoïèse, l'angiogenèse et le métabolisme du glucose (Bunn et Poyton, 1996).

Les protéines du choc thermique (*Heat Shock Proteins*, HSPs) représentent une autre catégorie de protéines activées au cours de l'ischémie. Outre les températures élevées, d'autres stress cellulaires (les ERO, le TNF- $\alpha$ , l'I/R, le sepsis, ou l'inflammation aiguë) peuvent également induire l'expression de HSP (Fan et coll., 1999). Il a été montré que cette protéine augmentait la quantité et l'activité de piègeurs de ERO, comme par exemple la superoxyde dismutase (SOD) au niveau des monocytes (Polla et coll., 1995). Les HSPs agiraient également sur la transcription de la protéine anti-apoptotique bcl-2 (Polla et coll., 1996).

Ces processus d'adaptation à une situation d'hypoxie permettent de réduire les effets néfastes de l'ischémie.

### **Polynucléaires neutrophiles**

Au cours de la reperfusion, les PNN sont d'abord recrutés dans le foie où ils contribuent ensuite au développement du processus lésionnel.

#### ***Recrutement et adhésion : rôle des chimiokines***

Parmi les molécules d'adhésion dont l'expression augmente à la surface des CES, la P-sélectine, provoque l'adhésion des plaquettes et des PNN aux CES (Sawaya et coll., 1999). La liaison des plaquettes aux CES conduit à l'apoptose de ces dernières et contribue ainsi à la dysfonction hépatique (Sindram et coll., 2000). L'interaction initiale entre les PNN et les CES augmente l'adhésion entre ces cellules, par l'intermédiaire de la sous-unité  $\beta_2$  des intégrines au niveau des PNN et des molécules ICAM-1 pour les CES (Jaeschke et coll., 1993b ; Farhood et coll., 1995). L'enchaînement de ces processus conduit successivement les PNN au roulement (attachement transitoire), à l'arrêt (adhésion ferme), et enfin à la migration depuis la lumière vasculaire vers l'espace interstitiel hépatique.

Les chimiokines CXC (en particulier IL-8 et homologues) sont également impliquées dans le processus de recrutement des PNN au cours de la phase précoce de reperfusion post-ischémique (Lentsch et coll., 1998a ; Luster, 1998). Les chimiokines produites par les CES interviennent dans l'activation initiale des PNN et leur adhésion qui suit, alors que les chimiokines produites par les cellules parenchymateuses induisent un gradient chimotactique qui sert à orienter le recrutement des PNN vers le tissu hépatique lésé. Les chimiokines CXC sont par ailleurs induites dans des organes distants, en particulier les poumons, et jouent un rôle majeur dans le développement de lésions organiques extrahépatiques après I/R (Yoshidome et coll., 1999a).

Alors que le recrutement des PNN dans les veinules post-sinusoïdales hépatiques dépend entièrement des interactions entre les molécules d'adhésion exprimées à la fois sur les PNN et les CES (Vollmar et coll., 1995), il semblerait que ce recrutement de PNN dans les sinusoides (lumières plus

petites) soit « récepteur-indépendant » (Jaeschke et coll., 1996). L'accumulation sinusoidale serait secondaire à la vasoconstriction, l'œdème cellulaire et la diminution de la flexibilité membranaire (Banga et coll., 2005).

### **Activation des PNN et lésions hépatocytaires**

L'accumulation intra-parenchymateuse de PNN activés est à l'origine de lésions hépatocytaires par libération d'oxydants et d'enzymes protéolytiques. La mort des hépatocytes induite par les PNN nécessiterait un contact cellulaire direct entre les molécules d'adhésion CD11/CD18 et ICAM-1 (Nagendra et coll., 1997). Le mécanisme d'oxydation implique essentiellement le complexe enzymatique NADPH oxydase. L'activation des PNN entraîne une translocation des sous-unités cytosoliques de l'enzyme vers la membrane cellulaire où elles s'associent pour former un complexe multimérique actif à l'origine de la production d'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ). Une nouvelle réaction de réduction de l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) génère le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), qui peut être à son tour réduit en radical hydroxyle ( $^{\cdot}OH$ ), forme la plus active de toutes les ERO.

En présence d'ion chlorure, la myéloperoxydase (provenant de la dégranulation des PNN) convertit enzymatiquement l' $H_2O_2$  en acide hypochlorique (HOCL), un autre toxique majeur. La production d' $O_2^{\cdot-}$ , d' $H_2O_2$ , de  $^{\cdot}OH$ , et de HOCL peut endommager directement les hépatocytes (Jaeschke, 1991) et/ou désactiver des antiprotéases endogènes facilitant ainsi les lésions hépatocytaires induites par les enzymes protéolytiques (Lentsch et coll., 2000).

Les PNN activés peuvent également libérer un certain nombre de médiateurs par dégranulation exocytaire. Le contenu des granules des PNN inclut de grandes quantités de protéinases et des enzymes hydrolytiques qui peuvent avoir une action cytotoxique directe sur les hépatocytes (Li et coll., 1993). Les sérines protéinases (elastase, cathepsine G...) pourraient directement endommager les composants de la membrane hépatocytaire, alors que les métalloprotéinases dégraderaient principalement la membrane basale et les composants de la matrice extracellulaire.

### **Monoxyde d'azote**

Le monoxyde d'azote (NO) est un radical synthétisé via l'oxydation de la L-arginine par la NO synthétase (NOS). Dans le foie, il existe deux isoformes majeures de NOS, la NOS endothéliale (eNOS) et la NOS inductible (iNOS). eNOS est exprimée de façon constitutive, et son activité est dépendante du complexe  $Ca^{2+}$ /calmoduline (Vasquez-Vivar et coll., 1998). iNOS est synthétisée par les CES, les hépatocytes et les cellules de Kupffer, et son activité est indépendante du  $Ca^{2+}$ .

Dans des conditions physiologiques, seule eNOS est présente dans le foie. La faible quantité de NO produite régule la perfusion hépatique, prévient l'adhésion plaquettaire, la thrombose, l'accumulation de PNN et la sécrétion de médiateurs de l'inflammation (Gauthier et coll., 1994). Le NO induit également une vasodilatation au niveau sinusoidal et présinusoidal (McCuskey, 2000), et permet ainsi de garder un équilibre en contrecarrant l'effet de vasoconstricteurs comme l'endothéline (Pannen, 2002).

Au cours de l'I/R, l'expression de l'ARNm de iNOS débute 1 heure après la reperfusion avec une augmentation de l'activité iNOS à la 5<sup>e</sup> heure post-reperfusion (Hur et coll., 1999). L'induction de iNOS peut avoir des effets toxiques (Kimura et coll., 2003) ou protecteurs (Hsu et coll., 2002). Le type d'agression, les ratios en NO/anion superoxyde, les réserves hépatiques de glutathion réduit et la durée de l'ischémie sont autant de facteurs pouvant influencer le mode et l'intensité de production du NO et ainsi conditionner le caractère cytoprotecteur ou cytotoxique de cette molécule endogène (Rubbo et coll., 1996).

Le NO produit en grande quantité interagit avec l'anion superoxyde pour former l'anion peroxynitrite (ONOO<sup>-</sup>) qui peut provoquer des lésions cellulaires par peroxydation lipidique, inhibition de la chaîne respiratoire mitochondriale, inhibition de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase membranaire ou encore par formation de nitrotyrosine (Szabo, 2003).

## **Régulation de la réaction inflammatoire**

L'évolution de la réponse inflammatoire hépatique est déterminée par l'équilibre entre des médiateurs pro- et anti-inflammatoires (figure 8.2). D'autres facteurs contribuent également à la régulation de la réaction inflammatoire.

### ***Complément***

L'activation du complément semble représenter un événement crucial au cours de la reperfusion (Jaeschke et coll., 1993a ; Straatsburg et coll., 2000). Lors de la séquence I/R, la production de ERO par les cellules de Kupffer activées apparaît modérée et d'une durée limitée (Nunes et coll., 1995). Cette activation initiale est fortement potentialisée par fragment C5a du complément qui permet ainsi de prolonger le stress oxydant (Jaeschke et coll., 1993a). Outre son effet pro-inflammatoire, le complexe d'attaque membranaire (polymère formé des éléments C6-C9 du complément) peut également provoquer des lésions cellulaires directes (Scoazec et coll., 1997).

### ***Cytokines pro-inflammatoires***

L'activation des cellules de Kupffer entraîne la production et la libération de cytokines (CK) pro-inflammatoires, en particulier le TNF- $\alpha$  et l'IL-1 $\beta$  (Shito et coll., 1997). Ces CK sont fortement impliquées dans la réponse

inflammatoire associée à l'I/R (Colletti et coll., 1998). Elles sont produites essentiellement par les cellules de Kupffer (Suzuki et Toledo-Pereyra, 1994) mais aussi par les macrophages extra-hépatiques (Okuaki et coll., 1996). Le TNF- $\alpha$  et l'IL-1 $\beta$  induisent l'expression de molécules d'adhésion à la surface des CES (Colletti et coll., 1998) et stimulent la production et la libération des chimiokines CXC (ayant une activité chimiotactique puissante pour les PNN dans le foie post-ischémique (Colletti et coll., 1996 ; Lentsch et coll., 1998b) et dans certaines circonstances peuvent directement déclencher la mort cellulaire par apoptose (Leist et coll., 1994). De plus, ces CK recrutent et activent très précocement les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> (Zwacka et coll., 1997). Les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> résidents (Le Moine et coll., 2000) ou nouvellement accumulés (Zwacka et coll., 1997) peuvent produire des médiateurs tels que le TNF- $\beta$ , l'IFN- $\gamma$  et le facteur de stimulation des colonies de granulocytes (G-CSF), qui vont amplifier l'activation des cellules de Kupffer et favoriser le recrutement des PNN.

À l'instar d'autres réactions inflammatoires, le TNF- $\alpha$  constitue un médiateur central dans la réponse hépatique à l'I/R. De nombreux travaux ont pu montrer que la suppression de la production du TNF- $\alpha$  (ou sa neutralisation) permettait d'atténuer fortement les lésions de reperfusion (Essani et coll., 1997b ; Colletti et coll., 1998). Cette cytokine, produite très précocement après reperfusion, exerce ses propriétés pro-inflammatoires non seulement au niveau local hépatique mais aussi sur d'autres organes plus distants, plus particulièrement au niveau des poumons (Colletti et coll., 1990). Le TNF- $\alpha$  propage la réponse inflammatoire en induisant l'expression de molécules d'adhésion sur les cellules vasculaires endothéliales, et en stimulant la production et la libération des chimiokines CXC d'attraction des PNN (Colletti et coll., 1996).

L'IL-12 jouerait un rôle essentiel dans l'initiation de la réponse inflammatoire (Lentsch et coll., 1999a). L'IL-12 serait exprimée par les hépatocytes non seulement en phase précoce de la reperfusion mais aussi au cours de la phase ischémique. L'élimination de cette CK (anticorps neutralisant ou souris *knock-out*) montre clairement que la production endogène d'IL-12 est nécessaire à l'expression complète de TNF- $\alpha$  et à la réponse inflammatoire hépatique qui s'en suit (Lentsch et coll., 1999a).

### **Médiateurs lipidiques**

Le facteur d'activation des plaquettes (PAF) est formé principalement dans les CES au cours de l'I/R (Zhou et coll., 1992). Le PAF peut d'une part activer la production de l'anion superoxyde par les PNN (Bautista et Spitzer, 1992), et représente d'autre part un puissant activateur de la  $\beta$ 2-intégrines MAC-1 et de la formation de ERO dépendante de l'adhésion cellulaire (Shappell et coll., 1990).



La leukotriène B4 est également un puissant facteur chimiotactique pour les PNN humains (Schultz et coll., 1991). Il est généré en très grande quantité par les PNN au cours de la phase tardive de la reperfusion ; le LTB4 doit ainsi contribuer à l'amplification de la réponse des PNN (Hughes et coll., 1992). Les produits de la peroxydation lipidique ont également un effet chimiotactique sur les PNN et sont probablement responsables de la propagation des lésions inflammatoires à une phase de la reperfusion où de nombreux médiateurs peptidiques ne sont plus générés (Curzio et coll., 1986).

### ***Cytokines anti-inflammatoires***

L'IL-6, l'IL-10 et l'inhibiteur de plusieurs enzymes protéolytiques synthétisées par les leucocytes (SLPI) représentent les médiateurs les plus importants de régulation de la réponse inflammatoire. Ces médiateurs agiraient essentiellement en inhibant le facteur transcriptionnel NF- $\kappa$ B ; cette inhibition serait responsable d'une diminution de la production de chimiokines, d'une réduction de l'accumulation des PNN et d'une moindre expression d'ICAM-1 (Lentsch et coll., 1999b ; Yoshidome et coll., 1999b).

L'IL-13 exprime également des propriétés anti-inflammatoires mais à travers un mécanisme différent, par activation du facteur de transcription STATE-6 (Yoshidome et coll., 1999c).

Bien que NF- $\kappa$ B fasse partie intégrante de la réponse inflammatoire hépatique, l'activation de ce facteur de transcription semble être requise dans le processus de régénération hépatique après transplantation (Bradham et coll., 1999). NF- $\kappa$ B est en effet activé après transplantation hépatique et cette expression est associée à la réduction de l'apoptose hépatocytaire et des lésions de reperfusion. NF- $\kappa$ B jouerait donc un double rôle, agissant à la fois comme inducteur de la réponse inflammatoire et comme promoteur de la régénération hépatique.

### **Système immunitaire**

Récemment, de nombreux travaux ont montré que l'organe allogénique transplanté est reconnu et exposé au système immunitaire de l'hôte receveur dans les minutes ou les heures qui suivent la reperfusion. L'I/R s'inscrirait en fait dans un processus hautement coordonné et spécifique, médié par des composants cellulaires appartenant à la fois à l'immunité innée et à l'immunité adaptative (Land, 2005 ; Boros et Bromberg, 2006).

#### ***Immunité innée***

Les mécanismes physiopathologiques sous-tendant l'activation de la réponse immunitaire innée constitue un nouveau champ d'exploration. Les récepteurs « *Toll like* » (TLRs, en particulier TLR4) semblent jouer un rôle central dans

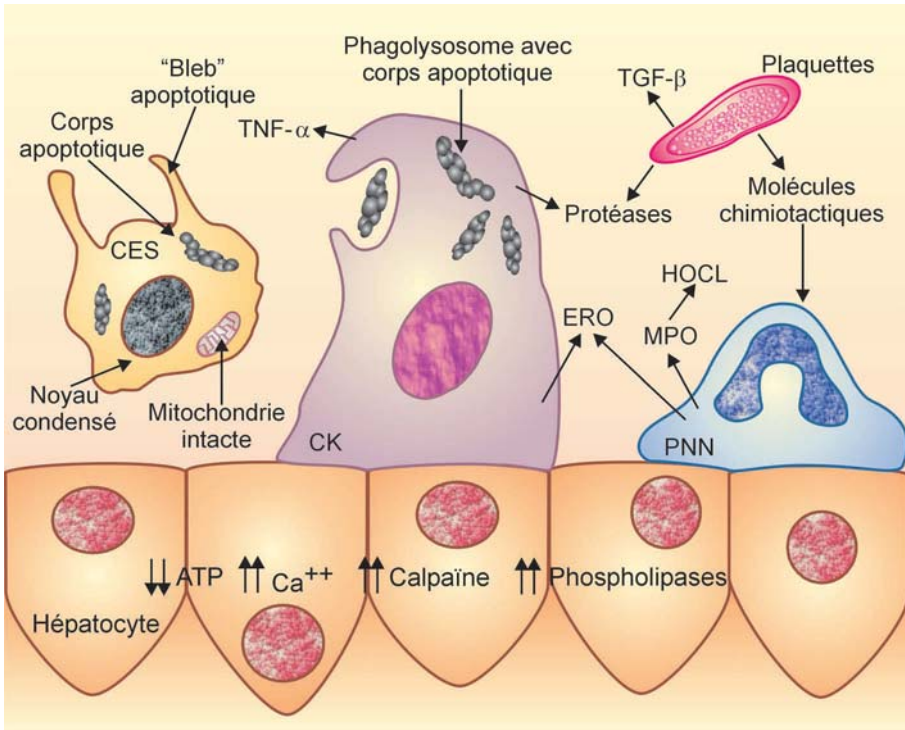
cette activation, mais les interactions précises qui se développent entre les différents composants cellulaires et moléculaires (cellules parenchymateuses, facteurs du complément, cellules NK, lymphocytes T) demeurent encore spéculatives. En outre, des investigations futures dans ce domaine pourraient permettre de préciser l'implication des lésions d'I/R et de l'immunité innée dans le développement de la tolérance.

### **Immunité adaptative**

Les lymphocytes T impliqués dans la réponse immune adaptative participeraient activement aux mécanismes sous-tendant les lésions d'I/R hépatique (Caldwell et coll., 2007). Il a été montré que l'administration par voie systémique d'agents immunosuppresseurs permettait d'atténuer les dommages hépatocellulaires qui se manifestent au cours de la reperfusion (Suzuki et coll., 1993 ; Matsuda et coll., 1998 ; Shen et coll., 2002). L'adhésion des lymphocytes T CD4+ dans les sinusoides hépatiques surviendrait au cours de la phase précoce de la reperfusion et serait induite par le TNF- $\alpha$  et l'IL-1 (Clavien et coll., 1993). Ces lymphocytes T peuvent d'une part augmenter l'activation des cellules de Kupffer et d'autre part agir comme des médiateurs cellulaires dans le recrutement des PNN en libérant des substances telles que le GCSF (*Granulocyte Colony Stimulating Factor*) et l'IFN- $\gamma$  (Zwacka et coll., 1997).

### **Cellules sinusoidales endothéliales**

La cellule endothéliale sinusoidale (CES) représente la principale cellule cible des lésions de reperfusion, au moins au cours de la phase précoce (Zhu et coll., 2007). La corrélation positive entre le nombre de cellules apoptotiques et la viabilité du greffon (Gao et coll., 1998) ainsi que l'effet protecteur d'agents anti-apoptotiques (Wu et coll., 1997) ont fait suggérer que l'apoptose des CES pourrait constituer un mécanisme axial des lésions de reperfusion (figure 8.3). Les CES détachées dans la lumière vasculaire au cours de la phase d'ischémie ne meurent pas toutes au cours de la reperfusion. En effet, les CES lésées peuvent se rattacher à la matrice périnusoidale, un mécanisme de réparation qui serait dépendant du contenu intracellulaire en ATP, du degré de glycosylation hépatocytaire et probablement du degré de détachement de la CES (Morgan et coll., 1991). Les molécules de jonction entre les CES ou de la matrice périnusoidale pourraient également jouer un rôle essentiel dans le maintien de la viabilité cellulaire. En fait, les CES s'engageraient dans l'apoptose en cas d'absence de rattachement à la paroi vasculaire (Ruoslahti, 1996). Les facteurs conduisant à l'apoptose des CES demeurent spéculatifs. Les ERO (Motoyama et coll., 1998), le TNF- $\alpha$  (Zheng et coll., 1995), l'augmentation de la concentration intracytoplasmique en calcium (Martikainen et coll., 1991) ainsi que les protéases calpaïnes (Squier et coll., 1994) pourraient être impliqués.



**Figure 8.3 : Apoptose des cellules endothéliales sinusoidales au cours de la reperfusion (d'après Clavien, 1998)**

CES : cellule endothéliale sinusoidale ; CK : cellule de Kupffer ; ERO : espèces réactives de l'oxygène ; HOCL : acide hypochlorique ; MPO : myéloperoxydase ; PNN : polynucléaire neutrophile ; TGF- $\beta$  : *Transforming Growth Factor*  $\beta$  ; TNF- $\alpha$  : *Tumor Necrosis Factor*  $\alpha$  ; XD : xanthine déshydrogénase ; XO : xanthine oxydase

### Plaquettes

La contribution des plaquettes aux lésions de reperfusion demeure évasive. Cependant, une corrélation entre adhésion des plaquettes aux CES et fonction du greffon a été clairement établie (Cywes et coll., 1993). Les plaquettes, qui représentent une source importante de protéases et de CK proapoptotiques telles que le TGF- $\beta$  (Tsukada et coll., 1995), agiraient de concert avec les leucocytes en favorisant leur séquestration par l'intermédiaire de différentes molécules chimiotactiques (Todoroki et coll., 1991) (figure 8.3).

## Perspectives : analyse protéomique et génomique

L'identification des gènes et protéines dont l'expression (ou la fonction) est directement modifiée au cours du processus de transplantation doit permettre de mieux comprendre les bases moléculaires des lésions hépatiques induites par l'I/R et ainsi développer de nouvelles stratégies protectrices ou thérapeutiques ciblées. La génomique et la protéomique représentent des nouveaux systèmes d'analyse essentiels, permettant à la fois d'identifier et de caractériser/hierarchiser les différents profils d'expression (Emadali et coll., 2006 et 2007 ; Conti et coll., 2007).

## Mort cellulaire et lésions

Les conséquences de l'I/R en termes de nécrose et d'apoptose sont présentées.

### Nécrose oncotique

La déperdition en ATP conduit à l'œdème cellulaire, la ballonnisation et l'œdème des mitochondries, la dilatation du réticulum endoplasmique et la formation de protusions de la membrane plasmique appelées « *blebs* » (Lemasters et coll., 1987). Immédiatement avant la mort cellulaire, les hépatocytes et les CES développent un état instable, caractérisé par la perméabilité mitochondriale, la dislocation lysosomiale, la coalescence et l'accroissement de la taille des *blebs*, l'œdème cellulaire et la fuite en électrolytes. La mort cellulaire survient par altération de la barrière de perméabilité de la membrane plasmique, souvent causée par la rupture des *blebs* (Nieminen et coll., 1988). La perméabilisation de la membrane plasmique déclenche une libération d'enzymes et d'autres composés qui entraînent des modifications histologiques dénommées nécrose. La libération du contenu cellulaire initie également la réponse inflammatoire au cours de la reperfusion. Avec le temps, des macrophages résorbent progressivement le tissu nécrotique résiduel qui est alors remplacé par du tissu cicatriciel.

### Apoptose

Les caractéristiques morphologiques habituelles de l'apoptose associent une diminution du volume cellulaire, une condensation nucléaire, une « margination » de la chromatine ainsi que la fragmentation du noyau et du cytoplasme en corps apoptotiques qui sont phagocytés et dégradés (Kerr et coll., 1972). En général, il n'existe pas de réaction inflammatoire significative au cours du processus classique d'apoptose. En revanche, dans les situations

où la mort cellulaire par apoptose ne peut aller à son terme, une nécrose secondaire se développe et déclenche la libération de matériel cellulaire pro-inflammatoire (Ogasawara et coll., 1993).

Il existe différents mécanismes de transmission de l'apoptose des hépatocytes. Une variété de médiateurs parmi lesquels le TNF- $\alpha$ , le Fas-Ligand, et le TRAIL (*Tumor necrosis factor-Related Apoptosis-Inducing Ligand*) active la voie « extrinsèque » de l'apoptose (Jaeschke et Lemasters, 2003). Ces médiateurs se lient d'abord à leurs récepteurs respectifs, couplage qui entraîne la fixation d'adaptateurs permettant le recrutement de la procaspase 8 et son activation protéolytique en caspase 8. Si une quantité suffisante de caspase 8 est générée, cette dernière peut directement activer la procaspase 3 (voie de type 1) (Scaffidi et coll., 1998). Cependant, pour l'hépatocyte, le signal intracellulaire impose une amplification au niveau de la mitochondrie (voie de type 2) qui entraîne, via la translocation de Bid (membre de la famille de Bcl-2) et la libération de cytochrome C, l'activation de la caspase 9 puis de la caspase 3 et conduit à l'étape ultime de l'apoptose (Yin, 2000 ; Wang, 2001 ; Jaeschke et Lemasters, 2003). La voie de type 2 est plus rapide que celle de type 1, et peut être mieux régulée. Si cette voie de type 2 est bloquée (par des inhibiteurs de la MPT comme la cyclosporine A), l'activation de la caspase 3 et l'apoptose se produisent quand même, mais plus lentement, par la voie de type 1.

En dépit de l'importance des données de la littérature sur la mort cellulaire par apoptose au cours de l'ischémie froide (Kohli et coll., 1999 ; Natori et coll., 1999 ; Sindram et coll., 2001), des interrogations subsistent en ce qui concerne l'interprétation des résultats, en particulier sur la pertinence de ce mode de mort cellulaire dans la pathophysiologie des lésions de reperfusion.

### **Relation entre nécrose oncotique et apoptose**

Après ischémie chaude, la nécrose induite par la reperfusion (« nécrose oncotique ») survient essentiellement au niveau des hépatocytes et s'accompagne d'une cytolysse significative (Mochida et coll., 1994). Après IF, cette mort par nécrose intéresse presque exclusivement les CES et est accompagnée d'une très discrète libération enzymatique (Caldwell-Kenkel et coll., 1989). L'étendue de cette nécrose cellulaire induite par la reperfusion est bien corrélée avec la défaillance du greffon après transplantation.

En fait, la « nécrose oncotique » représenterait le mode principal (plus de 90 %) de mort cellulaire au cours de la reperfusion, la mort cellulaire par apoptose n'excédant jamais 2 % des cellules à risque (Gujral et coll., 2001). Ce caractère limité de la mort cellulaire par apoptose est en outre corrélé avec la faible ou l'absence d'activation des caspases (Gujral et coll., 2001). Même si l'apoptose est induite sur un grand nombre d'hépatocytes par activation des récepteurs TNF et Fas, les cellules touchées par l'apoptose le sont

de façon individuelle et dispersée. En revanche, la « nécrose oncotique » survient typiquement sur une région de cellules adjacentes, préférentiellement dans les régions péri-centrales et moyennes du lobule hépatique, ces zones étant les plus éloignées de la suppléance en oxygène (Gujral et coll., 2002).

La « nécrose oncotique » semble partager des voies de signalisation intracellulaires communes avec l'apoptose comme en témoigne l'effet protecteur de la surexpression de Bcl-2 (Bilbao et coll., 1999). En dépit de la prédominance de la nécrose oncotique sur l'apoptose après I/R, d'autres travaux ont montré que l'inhibition des caspases avait un effet protecteur (Cursio et coll., 1999 ; Sindram et coll., 2001). Or, cet effet bénéfique semble plutôt limité aux premiers jours de reperfusion, la survie des greffons à long terme n'étant pas modifiée (Sindram et coll., 2001). Cette amélioration modeste des résultats en termes de survie doit probablement être liée à un effet anti-inflammatoire des inhibiteurs de caspases. Dans des conditions pathophysiologiques, les hépatocytes apoptotiques généreraient les chimiokines CXCL, favorisant ainsi la transmigration et l'infiltration parenchymateuse par les neutrophiles (Faouzi et coll., 2001). Même si elle se limite à un petit nombre de cellules, l'apoptose aurait donc le potentiel d'accentuer les lésions de reperfusion en contribuant à l'amplification de la réponse inflammatoire (Jaeschke, 2002b).

### Concept de « nécroapoptose »

La confusion concernant le rôle respectif de la nécrose oncotique et de l'apoptose au cours de l'I/R est sans doute liée aux mécanismes communs que partagent ces deux processus distincts de mort cellulaire. En particulier, la MPT semble jouer un rôle important dans l'initiation à la fois de la nécrose oncotique et de l'apoptose. Au cours de l'ischémie, la glycolyse anaérobie et la dégradation de l'ATP entraînent une diminution rapide du pH tissulaire, acidification qui protège contre la nécrose cellulaire malgré la profonde déplétion en ATP (Gores et coll., 1988). En revanche, la normalisation du pH intracellulaire au cours de la phase initiale de la reperfusion va précipiter les lésions conduisant à la mort cellulaire, via le déclenchement de la MPT (Qian et coll., 1997). Après le déclenchement de la MPT, le découplage de la mitochondrie provoque une profonde déplétion en ATP qui induit la mort cellulaire par nécrose (Qian et coll., 1997). La prévention de la « nécrose oncotique » par le fructose (substrat à la génération d'ATP par glycolyse) confirme l'importance de la déplétion en ATP dans le déclenchement de ce type de mort cellulaire. Seulement 15 à 20 % du stock normal d'ATP est suffisant pour prévenir la mort cellulaire par nécrose et la remplacer par l'apoptose via l'activation de la caspase 3 (Anundi et coll., 1987 ; Kim et coll., 2003).

Au cours de la reperfusion, la transition de la perméabilité mitochondriale représente un événement obligatoire dans le mécanisme conduisant à la mort cellulaire qu'elle soit de type nécrotique ou apoptotique. La concentration en ATP jouerait le rôle de « commutateur » entre ces deux types de mort cellulaire (Richter et coll., 1996) (figure 8.4) :

- lorsque le MPT s'accompagne d'une déplétion en ATP, le signal de l'apoptose est bloqué au niveau de l'apoptosome, et la nécrose survient comme une conséquence directe de l'absence de régénération suffisante en ATP ;
- *a contrario*, si des substrats glycolytiques sont disponibles, la déplétion profonde en ATP est prévenue et le processus s'engage vers la voie de l'apoptose.

La capacité d'un processus nécrotique d'être converti en processus apoptotique, et vice et versa, illustre bien le fait que l'apoptose et la nécrose oncotique ne sont pas nécessairement des événements distincts et indépendants. Au contraire, les voies métaboliques conduisant à l'apoptose et à la nécrose peuvent être partagées, un phénomène appelé « nécroapoptose » (Jaeschke et Lemasters, 2003).

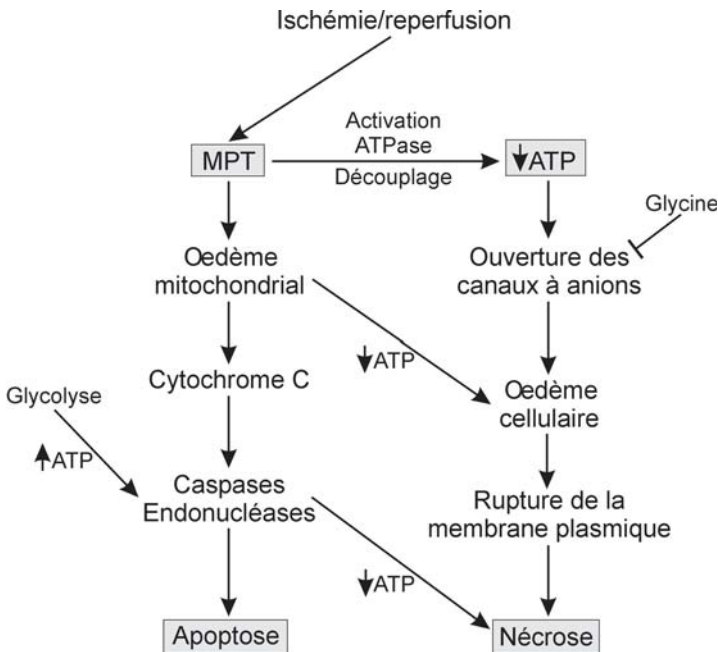


Figure 8.4 : Transition de perméabilité membranaire mitochondriale (MPT) et « nécroapoptose » au cours de l'ischémie/reperfusion (d'après Jaeschke et Lemasters, 2003)

## Influence de la mort encéphalique sur le syndrome d'ischémie/reperfusion

Les donneurs en état de mort encéphalique (ME) représentent la plus grande source d'organes disponibles pour la transplantation d'organes solides. Cette destruction irréversible du système nerveux central est à l'origine de multiples modifications pathophysiologiques (Mertes, 1996 ; Wilhelm et coll., 2000 ; Pratschke et coll., 2005) qui pourraient exacerber les lésions d'I/R auxquelles les organes périphériques sont exposés au cours du processus de transplantation. Les conséquences potentielles de l'ensemble des événements entourant la ME semblent manifestes pour des organes comme le cœur et le rein (Bittner et coll., 1999 ; Pratschke et coll., 2000 ; Wilhelm et coll., 2000). L'impact de la ME sur le greffon hépatique est plus difficile à cerner. D'une façon générale, la fonction du greffon semble peu altérée, et il est admis que le foie exprime une certaine tolérance à la baisse de la pression artérielle (Lin et coll., 1989a ; Okamoto et coll., 1998). Cependant, si l'instabilité hémodynamique se prolonge, des effets délétères peuvent être observés au niveau morphologique (congestion veineuse centrale de type extensive voire lésions nécrotiques) (Okamoto et coll., 1998). Il s'avère toutefois impossible de dire si ces lésions morphologiques sont dues à l'état de ME en lui-même, ou aux mesures réanimatoires intensives, avec entre autres l'utilisation fréquente d'agents vasopresseurs.

Expérimentalement, plusieurs études ont montré que l'augmentation brutale de la pression intracrânienne s'accompagnait d'une libération massive de CK pro-inflammatoires (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) dans les organes périphériques tels que le cœur, les reins et le foie (Takada et coll., 1998 ; Koo et coll., 1999 ; van der Hoeven et coll., 1999 ; Wilhelm et coll., 2000). L'expression de diverses molécules d'adhésion (sélectines, ICAM, VCAM, LFA-1) qui s'en suit a été clairement observée à la surface des leucocytes recrutés et au niveau des cellules endothéliales et parenchymateuses (van der Hoeven et coll., 1999 et 2000a). En clinique, une infiltration leucocytaire hépatique significativement plus marquée a pu être observée chez le donneur en état de ME par comparaison au foie de donneur vivant (Jassem et coll., 2003). Au cours de cette cascade inflammatoire, l'IFN- $\gamma$  activerait également l'expression des antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité (MHC de classe I et II), augmentant ainsi l'immunogénicité du greffon via les cellules T. Des travaux expérimentaux réalisés chez le rongeur semblent apporter des arguments pertinents quant à l'effet délétère de cet événement sur la qualité et la viabilité du greffon hépatique après transplantation (Okamoto et coll., 1999 ; van der Hoeven et coll., 2000a et b). Ces données n'ont cependant pas été confirmées chez le gros animal ou chez l'homme (Lin et coll., 1989b ; Yamaoka et coll., 1990 ; Compagnon et coll., 2002a). En utilisant pour la première fois un modèle de transplantation hépatique orthotopique chez le gros animal, Compagnon et coll. (2002a) ont pu montrer d'une part que la ME



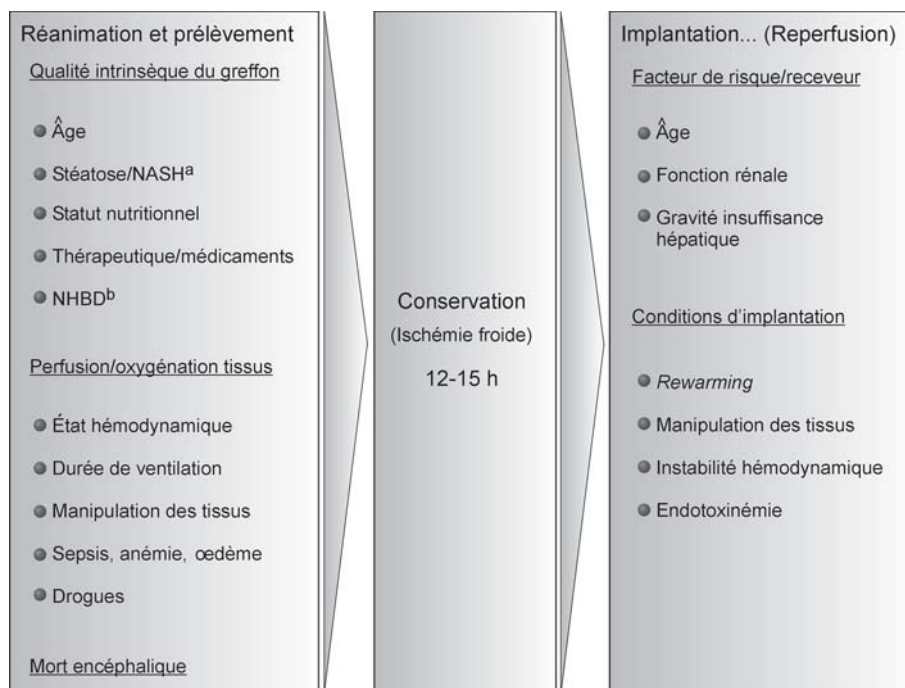
n'occasionnait pas de souffrance hépatocellulaire avant le prélèvement de l'organe chez le donneur. D'autre part, l'interaction entre la destruction du système nerveux central et la conservation prolongée du greffon hépatique n'exacerbait pas les lésions d'I/R, et ne compromettait ni la reprise de fonction immédiate du greffon hépatique, ni la survie après transplantation.

Bien que les foies prélevés sur donneurs vivants apparentés semblent exprimer une incidence de dysfonction primaire plus faible (Yamaoka et coll., 1993), les rôles respectifs de la ME et du management du donneur ne sont pas faciles à discerner. Chez le donneur cadavérique, les importants échanges liquidiens et hydroélectrolytiques imposent souvent des remplissages massifs afin de maintenir une homéostasie satisfaisante. Qui plus est, les organes sont souvent prélevés dans des conditions sub-optimales ; les donneurs décédés doivent en effet souvent faire face à de multiples événements défavorables tels que l'état de choc hémodynamique et/ou infectieux, l'hypoxie, des infections diverses, des interventions chirurgicales, un état de dénutrition (en rapport avec un séjour prolongé en unité de réanimation) et des transfusions sanguines plus ou moins importantes. *A contrario*, le donneur vivant ne souffre d'aucune pathologie préexistante, un bilan d'évaluation rigoureux ayant préalablement été réalisé. L'organe est prélevé dans un environnement chirurgical étroitement contrôlé, refroidi puis transplanté chez le receveur dans un délai très court.

## **Facteurs d'aggravation du syndrome d'ischémie/reperfusion**

De multiples mécanismes, sous-tendant les lésions d'I/R, contribuent à des degrés variables à la dysfonction du greffon hépatique. Si le pronostic immédiat de la greffe est largement dépendant des conditions de conservation du greffon, il peut également être modulé de manière substantielle par certains facteurs de risque inhérents au statut du donneur et du receveur. Ainsi, la capacité d'un greffon à reprendre rapidement une fonction normale après sa revascularisation, dépend d'abord de la qualité intrinsèque du foie chez le donneur au moment du prélèvement. Le degré de stéatose du greffon, le statut nutritionnel tout comme l'âge du donneur, la survenue d'une ischémie chaude à l'occasion des épisodes de collapsus qui émaillent la réanimation avant ou pendant le prélèvement, une anémie ou encore le sepsis (exposition à des endotoxines) (Yokoyama et coll., 1989 ; Essani et coll., 1996) représentent autant de facteurs plus ou moins associés qui peuvent exacerber les lésions de reperfusion post-ischémique et conditionner en partie le pronostic de la greffe. L'état de mort encéphalique chez le donneur cadavérique et les modifications physiopathologiques qui l'accompagnent sont également à prendre en compte dans le processus complexe que constitue l'I/R. Le statut du receveur (âge, fonction rénale, gravité de l'insuffisance hépatocellulaire...) ou

encore les conditions d'implantation du greffon (instabilité hémodynamique et/ou endotoxinémie) (Yokoyama et coll., 1989) peuvent aussi influencer de manière significative sur la reprise de fonction du greffon (figure 8.5).



**Figure 8.5 : Facteurs de risque pouvant exacerber le syndrome d'I/R**

<sup>a</sup> NASH : Stéatohépatite non alcoolique ; <sup>b</sup> NHBD : *Non Heart Beating Donor*, donneur à cœur arrêté

## Conservation du greffon hépatique

La qualité de la conservation est un déterminant majeur de la fonction initiale du greffon et de la survie. La viabilité du greffon au cours de son transfert ischémique du donneur vers le receveur est basée principalement sur l'hypothermie, qui est initialement obtenue en rinçant les organes *in situ* avec une solution de conservation froide (4°C). La distribution homogène de l'hypothermie est au mieux réalisée en perfusant chaque organe, au travers de ses vaisseaux afférents, à l'aide d'une solution réfrigérante. Par leur action mécanique, ces solutions lavent les vaisseaux des éléments figurés qu'ils contiennent et refroidissent instantanément, de manière homogène, les tissus qu'elles irriguent. L'organe est ensuite immergé dans la solution de conservation réfrigérée (entre 0° et 4°C).

## Principes de base de la conservation en ischémie froide

Se basant sur ces éléments, Belzer et Southard ont décrit ce qu'ils considéraient comme les principes de base des éléments nécessaires à la composition d'une solution de conservation, principes nécessaires pour contrebalancer les effets délétères de l'hypothermie. L'équipe de Madison introduisait 3 nouveaux concepts (Southard et coll., 1990) :

- la pression osmotique n'est plus obtenue par un agent métaboliquement actif comme le glucose, elle est mieux maintenue élevée grâce à l'adjonction de substrats métaboliquement inertes tels que le lactobionate et le raffinose (action prolongée contre la tendance à l'œdème cellulaire induit par l'hypothermie) ;
- la présence d'un colloïde, en l'occurrence l'hydroxyéthylamidon. Cet agent stable et non toxique prévient l'expansion de l'espace extracellulaire, son adjonction apparaît fondamentale en cas de conservation prolongée ;
- l'addition d'antioxydants (glutathion, allopurinol) pour lutter contre le stress oxydant afin de diminuer les lésions de reperfusion (Ferguson et coll., 1991 ; Sumimoto et coll., 1991 ; Ferguson et coll., 1993 ; Lemasters et Thurman, 1997) et également de précurseurs de la synthèse d'ATP au moment de la reperfusion (adénosine, phosphate) (Southard et Belzer, 1993).

## Solutions de conservation des greffons hépatiques

À l'heure actuelle, trois solutions sont couramment utilisées en pratique clinique (tableau 8.I).

### **Solution UW (Viaspan®)**

L'UW (Viaspan®) a transformé la conservation d'organe (Belzer et Southard, 1988). Cette solution autorise des durées de conservation d'environ 12 à 15 heures (Kalayoglu et coll., 1988 ; Ploeg et coll., 1992). Il a été reproché à la solution UW de ne contenir aucun composant spécifiquement désigné pour limiter l'effet délétère de l'afflux intracellulaire en calcium. De plus, sa faible concentration en sodium, inhérente à sa formulation de type intracellulaire, serait même supposée promouvoir l'accumulation d'ions  $Ca^{2+}$ . Or, en plus de ses propriétés imperméantes, le lactobionate aiderait à chélater le calcium, limitant l'activité des enzymes calcium-dépendantes. Le lactobionate pourrait également chélater le fer et limiterait ainsi les lésions oxydatives durant la reperfusion. Quoiqu'il en soit, les mécanismes précis de protection offerts par l'UW ne sont pas connus, et la substitution d'un ingrédient majeur comme le lactobionate par des substances supposées avoir les mêmes propriétés modifient l'efficacité de la solution. Il est possible que les ingrédients composant l'UW présentent un synergisme ou soient effectifs seulement en combinaison : un phénomène appelé « *summation of protection* » (Southard et coll., 1990).

Tableau 8.1 : Solutions de conservation des viscères intra-abdominaux

	Solutions de conservation (mmol/l)		
	UW (Viaspan®) <sup>1</sup>	HTK (Custodiol®) <sup>2</sup>	Celsior®
Glucose	–	–	–
Lactobionate	100	–	80
Raffinose	30	–	–
Mannitol	–	30	60
Glutamate	–	–	20
Ketoglutarate	–	1	–
Tryptophane	–	2	–
Tampon Phosphate	25	–	–
Tampon Bicarbonate	–	–	–
Tampon Histidine	–	180	30
GSH <sup>3</sup>	2	–	3
Adénosine	5	–	–
Allopurinol	1	–	–
HEA <sup>4</sup>	50 g	–	–
Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup>	30/120	15/10	100/15
Mg <sup>+</sup>	5	4	13
Ca <sup>2+</sup>	–	0,015	0,25
pH	7,4	7,2	7,3
Osmolarité	320	310	360

<sup>1</sup> UW : solution de l'Université du Wisconsin (Viaspan®) ; <sup>2</sup> HTK : solution de Bretschneider (Custodiol®) ;

<sup>3</sup> GSH : glutathion réduit ; <sup>4</sup> HEA : hydroxyéthyl amidon

### **Solution Custodiol® (ou HTK)**

La formulation de cette solution reposait sur l'introduction d'un système tampon très efficace grâce à l'histidine et ses deux substrats (Bretschneider, 1980). La solution HTK a une viscosité très basse et nécessite des volumes importants de perfusion à basse pression. Pour des durées de conservation limitées, ses performances sont équivalentes à l'UW (Erhard et coll., 1994). Sa faible concentration en K<sup>+</sup> minimise les risques cardiaques lors de la revascularisation.

### ***Solution Celsior®***

La solution Celsior® s'inspire de la solution UW en apportant des agents imperméants inertes osmotiques (lactobionate et mannitol) et de la solution HTK en incorporant l'histidine (Menasche et coll., 1994). À l'instar de l'UW, elle inclut également dans sa formulation un antioxydant, le glutathion, maintenu sous sa forme réduite. La solution Celsior® est cependant une solution de type extracellulaire (concentrations élevées en Na<sup>+</sup> et basse en K<sup>+</sup>). La prévention de l'œdème cellulaire est assurée par le lactobionate et le mannitol. Dépourvue de colloïdes, la viscosité de la solution Celsior® est basse (1,15 mm<sup>2</sup>/sec *versus* 3,159 mm<sup>2</sup>/sec pour l'UW), propriété qui améliorerait la perfusabilité de la solution et offrirait une protection contre les lésions endothéliales (Menasche et coll., 1994). La solution Celsior® a été formulée pour contrôler l'homéostasie du calcium de par sa formulation ionique de type extracellulaire, supplémentée en Mg<sup>2+</sup> et en Ca<sup>2+</sup> dans un milieu faiblement acide. Cette formulation éviterait la dépolarisation des cellules musculaires lisses membranaires, dépolarisation qui se traduit par une vasoconstriction et une mauvaise distribution de la solution dans les capillaires (Studer et Borle, 1992). La solution Celsior® exprime des performances superposables (fréquence de dysfonction primaire du greffon et survie des patients à un an) à l'UW et représente une alternative à la solution de référence pour des durées de conservation standards (Cavallari et coll., 2003 ; Karam et coll., 2005).

### ***Nouvelles solutions de conservation***

De nouvelles solutions de conservation sont en cours d'évaluation.

La solution Polysol a été développée récemment à Amsterdam. Sa composition est basée sur le principe de la persistance d'un métabolisme à 4°C (Bessems et coll., 2005a). Il s'agit d'une solution de conservation classique, enrichie avec des acides aminés, des vitamines et des antioxydants (Bessems et coll., 2005a).

La solution IGL-1 (Institut Gustave Lopez) a quant à elle été développée à Lyon en s'inspirant à la fois des principes des solutions UW et Celsior® (Ben Abdennebi et coll., 2002). Elle combine le caractère extracellulaire du Celsior® et la présence d'un colloïde comme dans l'UW, le PEG se substituant à l'hydroxyéthylamidon.

### **Température optimale de conservation**

Les premiers travaux expérimentaux ont montré que la température optimale de conservation statique en IF était de 4°C (égale à celle des réfrigérateurs), la fourchette optimale se situant entre 2 et 4°C. Un monitoring était recommandé, en particulier au cours de la « *back table* » et du conditionnement (Belzer et Southard, 1988 ; Kennedy et coll., 1990). Des travaux

ultérieurs ont montré que la température optimale se situait plutôt entre 0 et 1°C, et surtout que de petites variations (de l'ordre de 4 à 5°C) pouvaient influencer significativement la reprise de fonction après reperfusion du greffon (Hertl et coll., 1994). Par ailleurs, une activité métabolique substantielle persiste au cours de la période d'implantation, la durée de cette période d'ischémie chaude relative ayant une influence significative sur la fonction du greffon (Cywes et coll., 1992 ; Holzmuller et coll., 1993).

## Défaillance primaire du greffon hépatique

Les dysfonctions hépatiques incluent la non-fonction primaire des greffons, événement grave à l'origine de la plupart des retransplantations précoces (Uemura et coll., 2007), et la fonction retardée du greffon hépatique qui s'accompagne d'une morbidité importante et d'une diminution de la survie à moyen terme (Porte et coll., 1998).

### Non-fonction primaire

La non-fonction primaire se définit comme la défaillance aiguë de la fonction hépatique dans les suites immédiates de la revascularisation, sans cause identifiable, et conduit soit à la retransplantation en urgence ou à la mort du patient. Alors que son incidence oscillait entre 2 % et 8 % au début des années 1990, elle est rencontrée moins fréquemment à l'heure actuelle, les données les plus récentes de la littérature la situant entre 1 et 4 % selon les séries (Ploeg et coll., 1993 ; Busuttill et coll., 1994 ; Bennett-Guerrero et coll., 2001 ; Oh et coll., 2004 ; Varotti et coll., 2005 ; Uemura et coll., 2007).

Le mécanisme précis à l'origine de cette complication demeure indéterminé, il est probablement multifactoriel. La durée du séjour en réanimation ou l'âge du donneur, la durée d'ischémie froide, le type de solution de conservation, le *mismatch* entre le sexe du donneur et du receveur, et la durée opératoire représentent les facteurs le plus souvent associés à la défaillance du greffon, tout au moins en analyse univariée (Varotti et coll., 2005 ; Uemura et coll., 2007). Le degré de souffrance hépatocellulaire est étroitement corrélé à la non reprise de fonction du greffon hépatique (Rosen et coll., 1998).

### Dysfonction précoce (ou fonction retardée)

Le diagnostic de dysfonction précoce ou fonction retardée est établi en cas de présence, entre J2 et J7, d'au moins un des paramètres suivants : bilirubine > 170 µmol/l ; taux de prothrombine (TP) < 50 % ; encéphalopathie hépatique. L'incidence est estimée entre 15 à 20 % (Ploeg et coll., 1993 ; Deschenes et coll., 1998 ; Chen et coll., 2007).

Deschenes et coll. (1998) ont fait ressortir des facteurs indépendants liés au receveur (sexe masculin, status UNOS, bilirubine totale, TP < 50 %) ou au donneur (ethnie – autre que caucasien –, âge > 50 ans, IF >15 h, mauvaise qualité subjective du greffon – jugement du chirurgien –, séjour en réanimation > 3 jours, acidose préopératoire, *mismatch* ABO). Une période d'implantation du greffon de plus de 45 minutes ou une ischémie froide de plus de 9 heures ont également été incriminées comme facteurs de risque de dysfonction (Chen et coll., 2007).

### **Marqueurs et traitement de la défaillance aiguë du greffon**

Il n'existe actuellement aucun marqueur fiable permettant de prédire la fonctionnalité du greffon. Par conséquent, l'efficacité de toute stratégie pour améliorer la conservation du greffon hépatique (en situation expérimentale ou clinique) ne peut être évaluée avec certitude qu'après son implantation et sa revascularisation chez le receveur.

En post-reperfusion immédiate, les profils d'expression de certains gènes sur des biopsies du greffon (Berberat et coll., 2006) ou la mesure de profils métaboliques sanguins en spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (Serkova et coll., 2007) pourraient permettre d'identifier précocement la dysfonction aiguë du greffon. Prédire la fonction du greffon avant son implantation est encore plus séduisant. Ainsi, l'analyse de profils d'expression de gènes sur le greffon avant son prélèvement (Geuken et coll., 2005 ; Borozan et coll., 2006) ou l'évaluation du stress oxydant sur le plasma du receveur avant la greffe (Corradini et coll., 2005) représentent des pistes intéressantes pour prédire la fonction post-transplantation.

Les processus pathophysiologiques qui sous-tendent la dysfonction précoce du greffon sont complexes. À l'heure actuelle, il n'existe pas de traitement spécifiquement établi/standardisé de la défaillance aiguë du greffon hépatique (Selzner et coll., 2003 ; Taub, 2004). Le système MARS (*Molecular Adsorbent Recirculating System*) aurait un effet bénéfique sur les fonctions neurologique et rénale, et sur l'état hémodynamique, avec une bonne tolérance globale (Hetz et coll., 2006). Une étude multicentrique randomisée a été initiée récemment.

### **Conséquences des lésions d'I/R au niveau des lésions chroniques**

À long terme, l'incidence des rejets chroniques n'est pas corrélée à l'intensité des lésions d'I/R (Rosen et coll., 1998). Toutefois, l'I/R pourrait contribuer au développement d'autres lésions chroniques.

## Lésions biliaires

L'aspect macroscopique du greffon lors du prélèvement, la durée de reperfusion et la quantité de transfusion peropératoire sont autant de facteurs favorisant le développement de cholestases sévères et prolongées (Fusai et coll., 2006). L'incidence des sténoses biliaires non-anastomotiques est élevée, étroitement corrélée à la durée de l'IF. Les mécanismes lésionnels sont encore mal cernés (« *ischemic-type* » *biliary lesions*). Il a été montré que les cellules de l'arbre biliaire avaient une sensibilité majeure aux lésions de reperfusion (> aux hépatocytes). On sait également que les sels biliaires hydrophobes ont une toxicité directe qui va amplifier les lésions de l'épithélium. Le détachement de la membrane basale serait corrélé à la durée d'IF. En cas d'IF > 10 heures, les solutions à faible viscosité seraient moins pourvoyeuses de lésions biliaires (Sanchez-Urdazpal et coll., 1992 et 1993 ; Noack et coll., 1993 ; Hertl et coll., 1995 ; Carrasco et coll., 1996).

## Récidive virale C

En cas de transplantation pour cirrhose virale C, l'intensité des lésions d'I/R favorise de façon significative la progression vers la fibrose en cas de récurrence virale sur le greffon (Watt, 2006).

## Stratégies pour améliorer la conservation du greffon hépatique

Améliorer la qualité du greffon représente un moyen de favoriser son fonctionnement immédiat, d'optimiser au mieux l'allocation des greffons et aussi une façon de réduire la pénurie d'organes.

La simplicité de la conservation en IF constitue également un de ses inconvénients. Cette méthode n'est en effet pas très adaptée pour la conservation des greffons « sub-optimaux » (greffons stéatosiques, donneurs âgés, donneurs dénutris ou infectés en raison de long séjour en réanimation, donneurs ayant présenté des troubles hémodynamiques – bas débits voire arrêts cardio-respiratoires c'est-à-dire donneurs à cœur arrêté...). Cette limite de la méthode pourrait devenir encore plus parlante dans les années à venir du fait de la nécessité croissante d'avoir recours à ce pool de greffons prélevés chez des donneurs « aux critères élargis ».

Différentes stratégies ont été développées dans le but de favoriser la reprise de fonction immédiate des organes prélevés mais aussi d'élargir l'accès à un pool de donneurs « non idéaux » afin de satisfaire la demande croissante en greffon. Ces stratégies incluent les modifications ponctuelles des solutions de conservation et le prétraitement du donneur.



## Modifications ponctuelles des solutions de conservation

De nombreuses équipes se sont attachées à améliorer les performances des solutions de conservation en les supplémentant en agents cytoprotecteurs. Le plus gros du travail concernant ces modifications ponctuelles des solutions a été réalisé sur des modèles cellulaires ou chez le rongeur. Malheureusement, les bénéfices observés ne se sont pas toujours confirmés chez le gros animal et ces modifications se sont souvent traduites par des résultats peu probants en clinique.

Ainsi, ont été testés expérimentalement et avec plus ou moins de succès : l'adjonction d'acides aminés qui suppriment la protéolyse (inhibition essentielle en cas de conservation prolongée) (Charrueau et coll., 2000), des antioxydants (NAC, curcumin) (Boudjema et coll., 1990a ; Chen et coll., 2006), des inhibiteurs calciques (nisoldipine, lidoflazine...) +/- associés à des antiprotéases (leupeptine, pepstatine) (Takei et coll., 1990 ; Jacobsson et coll., 1993), des piègeurs de radicaux libres (superoxyde dismutase, mélatonine) (Kawamoto et coll., 1990 ; Vairetti et coll., 2005), des « donneurs » de NO (sodium nitroprusside, L-Arginine) (Rodriguez et coll., 1999), des inhibiteurs de la peroxydation lipidique (Iazaroid) (Todo et coll., 1996), des inhibiteurs de l'apoptose (IDN-6556) (Hoglen et coll., 2007), des inhibiteurs des métalloprotéinases de la matrice extracellulaire (Defamie et coll., 2008) ou encore des inhibiteurs de l'activation des cellules de Kupffer (NAC) (Maeda et coll., 1998).

Toujours expérimentalement, il a été montré que l'adjonction de polyéthylène glycol (PEG) à la solution de conservation permettait d'améliorer significativement la qualité des greffons hépatiques (Tokunaga et coll., 1992 ; Ben Abdennebi et coll., 2002). Les mécanismes expliquant l'effet bénéfique de cet agent imperméant incluraient la prévention de l'œdème cellulaire et la diminution de la peroxydation lipidique. Le PEG se lierait aux phospholipides et s'accumulerait dans les membranes cellulaires. L'altération de l'homéostasie du calcium est associée comme nous l'avons déjà mentionné avec l'activation de diverses protéases calcium-dépendantes et la perte de la fonction mitochondriale. En recouvrant les cellules non parenchymateuses, ce colloïde constituerait une barrière au passage des ions  $Ca^{2+}$  (Ben Abdennebi et coll., 2002). Tokunaga et coll. (1992) ont également suggéré que le PEG pouvait exprimer un effet immunoprotecteur.

Après avoir été testée avec succès pour la conservation du rein, l'adjonction de facteurs de croissance a montré également un effet bénéfique dans un modèle de transplantation hépatique chez le gros animal, en particulier en termes de survie (Ambiru et coll., 2004). Cette supplémentation en facteurs de croissance ouvre la voie à une nouvelle génération de solutions de conservation dites « métaboliquement actives » (McAnulty et coll., 2002).

## Prétraitement du donneur

Le concept de prétraitement du donneur afin d'augmenter la tolérance du greffon à l'I/R a été exploré pour tous les organes mais la plupart des travaux expérimentaux et cliniques ont été réalisés pour le foie. Ces stratégies de prétraitement incluent : la protection directe à l'aide de drogues administrées au donneur, les interventions chirurgicales et la thérapie génique.

### *Protection directe à l'aide de drogues administrées au donneur*

Ces drogues sont administrées dans le but d'inhiber l'action de molécules délétères ou de stimuler des voies métaboliques protectrices.

Les premiers travaux sur le prétraitement se sont intéressés au statut énergétique du foie chez le donneur. Le groupe de Boston a démontré le premier l'hypothèse selon laquelle les greffons hépatiques avec un taux élevé d'ATP conduiraient à de meilleurs résultats (Lanir et coll., 1988). Se basant sur ces résultats, plusieurs équipes dont celle de Belzer ont imaginé que le statut nutritionnel, et plus particulièrement les réserves en glycogène qui représentent la source majeure de glucose et d'ATP, pouvaient représenter un facteur déterminant de la fonction initiale du greffon (Belzer et Southard, 1988). L'équipe de Madison a ainsi montré expérimentalement que le jeûne et la déplétion en glycogène chez le donneur étaient responsables d'une diminution significative de la production de bile et d'ATP et entraînaient des dommages hépatocellulaires plus importants lors de la reperfusion (Boudjema et coll., 1990b). Ce concept a été appliqué en clinique (Cywes et coll., 1992). Le prétraitement des donneurs par injection de glucose par voie intraveineuse avant le prélèvement permettait d'augmenter significativement le taux de glycogène hépatique et était associé à de moindres lésions hépatocellulaires après transplantation. Alors que les résultats cliniques étaient prometteurs, Sumimoto et coll. (1993) ont montré à partir d'un modèle de transplantation chez le rat que plus les donneurs étaient déprimés en glycogène par une longue période de jeûne, meilleure était la survie des receveurs. Pour les auteurs, de tels résultats pouvaient s'expliquer par une inactivation des cellules de Kupffer par l'état de jeûne, supprimant ainsi la génération de ERO et de molécules pro-inflammatoires.

Des travaux ultérieurs ont confirmé l'hypothèse selon laquelle l'inactivation des cellules de Kupffer pouvait diminuer les lésions d'I/R et nombre de molécules ont été ainsi testées expérimentalement chez le donneur. Par exemple, le groupe de Thurman (Schemmer et coll., 1998) a montré que, chez le rongeur, la dépression des cellules de Kupffer avec le chlorure de gadolinium permettait d'augmenter significativement la survie des receveurs. L'application clinique d'une telle stratégie soulevait cependant le problème de la toxicité potentielle du chlorure de gadolinium. Pour cette raison, d'autres équipes ont testé le N-dichlorométhylène encapsulé dans des liposomes, molécule qui déprimerait plus sélectivement et plus complètement les cellules

de Kupffer. Alors que cet agent semblait améliorer sensiblement la fonction hépatique *in vitro*, les résultats *in vivo* n'étaient significatifs que si le temps de clampage portal durant l'implantation du greffon était long, condition associée à une activation des cellules de Kupffer par les endotoxines d'origine intestinale (Urata et coll., 2000).

D'autres auteurs ont montré que l'augmentation des défenses naturelles des cellules hépatiques contre les radicaux libres par l'injection intraportale de N-acétyl cystéine, un précurseur de la synthèse du glutathion (Nakano et coll., 1995), ou par des stratégies visant à surexprimer des protéines antioxydantes comme la superoxyde dismutase (Zwacka et coll., 1998 ; Yabe et coll., 2001) représentait un moyen d'augmenter la résistance du greffon à l'IF. Cependant, aucune de ces stratégies n'a trouvé la voie vers l'application en clinique.

Comme déjà largement abordée, il est admis que l'apoptose des cellules hépatiques joue un rôle important dans les lésions d'I/R. Les mécanismes initiant cette mort cellulaire programmée ne sont pas complètement élucidés mais semblent s'articuler de façon prééminente autour de l'activation de protéases. Ainsi, Natori et coll. (1999) ont été capables de diminuer significativement l'apoptose des cellules endothéliales et de prolonger la survie chez les animaux recevant un foie d'un donneur prétraité par un inhibiteur de la caspase 3. Des inhibiteurs des calpaïnes ont été également testés. Les calpaïnes appartiennent à un groupe de protéases intracellulaires calcium-dépendantes qui agiraient de concert avec les caspases pour activer la protéolyse membranaire au moment de la reperfusion. Le groupe de Clavien a montré que l'administration de cet inhibiteur au donneur permettait de diminuer significativement les dommages hépatocellulaires et surtout de prolonger la survie des animaux dans un modèle de transplantation (Kohli et coll., 1997). Toujours en situation expérimentale, d'autres équipes ont également pu observer que l'inhibition de l'apoptose chez le donneur diminuait significativement les lésions de préservation/reperfusion (Zhang et coll., 2005). Dans la situation particulière du donneur vivant apparenté, cette stratégie doit être envisagée avec beaucoup de précaution. Le danger avec ces traitements anti-apoptotiques vient du risque d'inhiber également l'apoptose dans les tissus ou organes non affectés par l'agression ischémique. Le *turnover* physiologique des cellules incluant l'élimination des cellules défectueuses ou même de cellules potentiellement cancéreuses pourrait être sévèrement perturbé.

L'ischémie froide, bien que nécessaire pour ralentir le métabolisme, entraîne des lésions bien documentées au niveau des CES hépatiques (Clavien, 1998). Les modifications morphologiques de ces cellules perturberaient la microcirculation hépatique au moment de la reperfusion (adhérence et activation des plaquettes et leucocytes, phénomènes thrombotiques) (Lemasters et Thurman, 1997). En situation expérimentale, de nombreuses équipes ont

rapporté l'effet protecteur du prétraitement du donneur avec des prostaglandines et de leurs analogues (Natori et coll., 1997 ; Totsuka et coll., 1998). Une étude clinique récente semble confirmer le potentiel de la PGI<sub>2</sub> dans la prévention des lésions de reperfusion, lorsque celle-ci est administrée chez le donneur, avant le prélèvement (Klein et coll., 1999). En fait, les cellules endothéliales hépatiques représenteraient la cible essentielle de « l'hépatoprotection » induite par les prostaglandines (Arai et coll., 1999 ; Itasaka et coll., 1999). De multiples mécanismes ont été proposés, incluant une amélioration de la perfusion sinusoidale, une diminution de l'adhésion des PNN aux cellules endothéliales et de l'agrégation plaquettaire. En outre, les analogues de prostaglandines (PGI<sub>2</sub>, prostacycline) atténueraient les perturbations de la microcirculation hépatique (Anthuber et coll., 1996). Le prétraitement du donneur à l'aide d'un inhibiteur de l'adénosine déaminase représente un autre moyen d'améliorer la reprise de fonction immédiate des greffons (Tian et coll., 2000). L'effet bénéfique de ce prétraitement serait également lié à une amélioration significative de la microcirculation lors de la reperfusion.

L'induction pharmacologique chez le donneur de la hème oxygénase 1 (HO-1) ou des protéines du choc thermique (*Heat-Shock Proteins*, HSP) représente d'autres moyens d'augmenter la tolérance du greffon à l'I/R (Fudaba et coll., 2001 ; Kato et coll., 2003 ; Wang et coll., 2005 ; Ollinger et coll., 2007).

Au total, le concept de prétraitement du donneur afin d'augmenter la tolérance du greffon est séduisant. Cependant, le mécanisme d'action des différents agents pharmacologiques testés est encore mal cerné et les données cliniques concernant l'application de cette stratégie demeurent limitées. D'autre part, le prétraitement pharmacologique du donneur possède des limitations telles que :

- le « *timing* » (l'administration n'est pas toujours possible) ;
- les questions éthiques (le prétraitement peut-il être débuté avant le constat de décès ?) ;
- les effets délétères sur d'autres fonctions intrinsèques du foie nécessaires chez le receveur (comme par exemple la fonction macrophagique des cellules de Kupffer) ;
- les effets systémiques potentiels de certaines stratégies ; l'effet délétère potentiel pour les autres organes susceptibles d'être prélevés chez le même donneur (manque de spécificité du traitement) ;
- le coût souvent élevé des molécules administrées.

### ***Interventions chirurgicales : préconditionnement ischémique***

De nombreux investigateurs se sont par ailleurs focalisés sur le préconditionnement ischémique (PI), une technique qui protégerait les organes des lésions d'I/R. Elle consiste en l'application préalable à une phase d'ischémie prolongée d'un ou de plusieurs cycles d'occlusion vasculaire et de reperfusion.

Ce stress ischémique induirait un état de tolérance envers une ischémie prolongée. Ce paradoxe fut caractérisé initialement pour le cœur par Murry et coll. (1986) avant d'être observé secondairement pour d'autres organes comme les reins (Toosy et coll., 1999), les poumons (Du et coll., 1996) et l'intestin (Hotter et coll., 1996 ; Davis et coll., 1999).

Pour le foie, il a été montré chez le rongeur que l'application du PI avant ischémie chaude prolongée permettait d'atténuer les dommages hépatocellulaires et d'améliorer la fonction hépatique ainsi que la survie (Yoshizumi et coll., 1998 ; Peralta et coll., 1999 ; Nilsson et coll., 2000 ; Compagnon et coll., 2002b). Ce concept de PI a été appliqué ultérieurement dans des modèles de transplantation hépatique chez le rat avec des résultats cependant discordants (Adam et coll., 1998 ; Yin et coll., 1998 ; Arai et coll., 2000). Nous disposons de peu de données chez le gros animal (Schulz et coll., 2001 ; Compagnon et coll., 2005). Récemment, l'utilisation d'un modèle canin a permis de confirmer les résultats observés chez le rongeur en montrant que le PI atténuait les lésions hépatocellulaires induites par une ischémie chaude prolongée, effet bénéfique qui était associé à une réduction de l'infiltration tissulaire en neutrophiles et à une augmentation de la synthèse d'ATP après reperfusion (Compagnon et coll., 2005). L'application d'un protocole identique de PI n'avait cependant aucun effet protecteur sur les lésions de reperfusion survenant après ischémie froide (modèle de transplantation hépatique), malgré une efficacité notable sur la viabilité cellulaire d'hépatocytes isolés soumis également à des lésions d'ischémie froide (Compagnon et coll., 2005). La raison pour laquelle le PI augmente la tolérance à l'ischémie chaude mais pas à l'IF reste inexplicée.

En situation clinique, nous disposons à l'heure actuelle de preuves limitées quant à l'efficacité du PI sur les lésions d'I/R hépatique (Clavien et coll., 2000 ; Totsuka et coll., 2000 ; Azoulay et coll., 2005 ; Cescon et coll., 2006 ; Jassem et coll., 2006). Azoulay et coll. (2005) ont rapporté un bénéfice en termes de dommage hépatocellulaire mais l'application du préconditionnement avant le prélèvement se traduisait cependant par un taux significativement plus élevé de dysfonction hépatique après transplantation. Le nombre de cycles d'I/R nécessaire à l'induction du PI pourrait être spécifique à chaque tissu (Hawaleshka et Jacobsohn, 1998). Alors que l'application de multiples et brefs cycles d'I/R semble être optimal pour le cœur (Murry et coll., 1986), un épisode unique de PI semble être plus efficace pour induire une protection maximale du foie à une ischémie prolongée, la durée optimale du stimulus ischémique semblant être de 10 minutes (Lloris-Carsi et coll., 1993). Une étude prospective randomisée récente n'a d'ailleurs pas montré de bénéfice si la durée du stimulus ischémique était réduite à 5 minutes (Koneru et coll., 2005).

Le mécanisme exact par lequel le PI conférerait une protection n'est pas complètement élucidé mais pourrait impliquer de nombreux signaux,

seconds messagers et effecteurs (Hawaleshka et Jacobsohn, 1998). Ce bref épisode d'I/R agirait comme un stimulus non spécifique qui activerait de multiples voies redondantes de signalisation. Le mécanisme protecteur induit par le PI est instantané, il survient dans les secondes qui suivent le stimulus. Le PI doit donc être appliqué immédiatement avant la phase d'ischémie prolongée auquel sera exposé le foie.

Différentes voies de signalisation intracellulaire pourraient être impliquées dans le PI hépatique précoce.

Peralta et coll. (1996) ont été les premiers à suggérer que la libération d'adénosine jouait un rôle clef dans ce phénomène de protection induite. Des travaux ultérieurs ont pu montrer que les récepteurs de l'adénosine de type A2 étaient impliqués dans la transduction du signal, que ce soit dans des conditions normo- ou hypothermiques (Nakayama et coll., 1999 ; Peralta et coll., 1999 ; Arai et coll., 2000). La phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-K) serait responsable de l'activation séquentielle de deux isoformes de la protéine kinase C (PKC- $\alpha$  et PKC- $\beta$ ) et de la p38 MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*) (Carini et Albano, 2003).

Le NO synthétisé induirait le PI en activant la p38 MAPK par l'intermédiaire d'une voie métabolique alternative reposant sur des signaux cGMP-dépendants (Carini et coll., 2003a). Peralta et coll. (2001) ont suggéré que l'adénosine libérée par les hépatocytes activerait la NO synthase (iNOS) dans les CES. Le monoxyde de carbone (CO) semble également jouer un rôle prédominant dans la médiation du PI (Peralta et coll., 1996 et 2001 ; Koti et coll., 2002 ; Barrier et coll., 2005).

Il est possible que d'autres facteurs, comme entre autres le stress oxydant ou le peptide atrial natriurétique (ANP), l'IL-6 et STAT 3, l'antagoniste du récepteur de l'IL-1 (IL-1 Ra) et Bcl-2 puissent contribuer à l'effet protecteur du PI (Carini et Albano, 2003 ; Carini et coll., 2003b ; Barrier et coll., 2005 ; Matsumoto et coll., 2006).

La résistance aux lésions d'I/R qui se développe à la phase précoce du PI résulte vraisemblablement de la modulation de plusieurs fonctions cellulaires telles que :

- le métabolisme énergétique : amélioration de la perfusion sinusoidale (Glanemann et coll., 2003), préservation des réserves en ATP et en glycogène (Compagnon et coll., 2002b ; Peralta et coll., 2000a), ainsi qu'un effet direct sur les fonctions mitochondriales avec maintien de l'état d'oxydoréduction (Koti et coll., 2002) ;
- le contrôle de l'équilibre acido-basique : meilleurs échanges ioniques transmembranaires et moindre production de protons par la glycolyse anaérobie en fourniraient l'explication (Carini et coll., 2001) ;
- la prévention des lésions oxydatives générées au cours de la reperfusion : amélioration des capacités antioxydantes (Peralta et coll., 2002) et moindre production de ERO (Fernandez et coll., 2002) ;

- l'inhibition de l'apoptose : diminution des lésions oxydatives et de la perte énergétique, l'inhibition de la caspase 3 (Yadav et coll., 1999), interaction directe possible avec les signaux proapoptotiques (Liu et coll., 2002) ;
- la réponse inflammatoire associée avec la reperfusion (Carini et Albano, 2003) : atténuation de la production de TNF- $\alpha$  et de chimiokines CXC, diminuant ainsi l'adhésion des leucocytes aux CES ainsi que l'infiltration hépatique post-ischémique par les PNN (Peralta et coll., 1996 ; Howell et coll., 2000). La capacité du PI à atténuer l'expression du TNF- $\alpha$  et de molécules d'adhésion intercellulaires impliquerait l'inhibition de NF- $\kappa$ B (Funaki et coll. (2002) ;
- la diminution de l'expression de l'endothéline, conduisant à l'amélioration de la microperfusion hépatique (Peralta et coll., 2000b) ;
- une meilleure capacité à synthétiser des protéines lors de la reperfusion. Dans un modèle cellulaire, il a été montré que l'effet bénéfique du PI était attribuable à une protection directe des cellules parenchymateuses hépatiques, et semblait dépendre en partie de la capacité à rétablir une synthèse protéique lors de la reperfusion (Compagnon et coll., 2002b).

La phase précoce du PI serait à l'origine d'une seconde fenêtre de protection, manifeste aux alentours de la 24<sup>e</sup> heure après l'application du stimulus, et qui pourrait durer entre 2 et 4 jours. Ce PI tardif a été observé après exposition à divers stimulus tels qu'une brève ischémie/reperfusion, une hyperthermie transitoire, un stress oxydant, ou l'infusion d'ANP (Carini et Albano, 2003). Cette protection est caractérisée par une amélioration de la perfusion sinusoidale et de la production de bile, ainsi qu'une diminution de l'infiltration leucocytaire et de la cytolysse hépatique. Du fait de son effet prolongé, le PI tardif pourrait être particulièrement intéressant en transplantation hépatique.

Différents mécanismes pourraient être impliqués dans le PI hépatique tardif.

L'augmentation de l'expression des protéines du choc thermique (HSP) (Kume et coll., 1996). En particulier, l'induction de HSP27 et de HSP70 jouerait un rôle central dans le développement de cette tolérance à l'ischémie/reperfusion. En se liant au cytochrome C et à des facteurs d'induction de l'apoptose (AIF, APAF-1), ces HSPs préviendraient l'activation des caspases (Garrido et coll., 2001). La phosphorylation de HSP 27 par la p38MAPK lui permettrait également d'interagir avec l'actine et ainsi d'augmenter la résistance du cytosquelette au stress oxydant (Huot et coll., 1996).

L'induction de l'hème oxygénase (HO-1) représente un autre mécanisme de défense lié à la stimulation des HSPs (Redaelli et coll., 2002 ; McNally et coll., 2006). HO-1 catalyse la dégradation de l'hème en monoxyde de carbone et de biliverdine, induisant la formation de bilirubine qui possède de puissantes propriétés antioxydantes. L'activation de HO-1 aurait également des effets anti-inflammatoires et anti-apoptotiques (Katori et coll., 2002).

Une autre conséquence majeure du PI tardif est la diminution de l'expression du TNF- $\alpha$  et de la protéine macrophagique de l'inflammation au cours de la réoxygénation. Cet effet serait médié par la modulation de la translocation nucléaire de NF- $\kappa$ B et AP-1, régulation résultant probablement de la stabilisation de protéines inhibitrices de NF- $\kappa$ B après leur liaison avec HSP70 (Kierner et coll., 2000).

Le préconditionnement hépatique peut également être réalisé en appliquant une courte période d'hyperthermie sub-létale avant la phase d'ischémie prolongée. Le préconditionnement hyperthermique (PH) a été évalué dans des modèles de transplantation chez le rongeur avec des résultats bénéfiques en termes de souffrance hépatocellulaire, de fonction de synthèse et de survie (Matsumoto et coll., 2001 ; Redaelli et coll., 2002). Une inhibition de l'apoptose et une meilleure préservation ultrastructurelle étaient observées dans les groupes d'animaux préconditionnés (15-20 min à 42-43°C, application du PH 24-48 h avant le prélèvement). Cet effet protecteur du PH était associé à des taux augmentés HSP 70 dans les hépatocytes et les CES. L'application clinique de cette technique de préconditionnement est cependant difficilement envisageable.

Actuellement, les stratégies chirurgicales comme le préconditionnement ischémique sont les plus prometteuses et les seules à pouvoir être envisagées pour une application clinique de routine. Le mécanisme exact de l'action protectrice est incomplètement connu. Il s'agit d'un processus multifactoriel nécessitant l'interaction de nombreux signaux, seconds messagers et effecteurs. Le « *timing* » du stimulus de préconditionnement semble essentiel. L'application clinique du préconditionnement hyperthermique dont l'effet protecteur est médié par le système HO-1, est plus problématique.

### **Thérapie génique**

Enfin, le transfert de gènes pourrait offrir la possibilité de prévenir et réduire les dommages hépatiques occasionnés au cours du processus de transplantation (Ke et coll., 2004). Ainsi, la transfection du gène *Bcl-2* représenterait un moyen d'augmenter la résistance hépatique à l'ischémie froide en atténuant l'apoptose (Rentsch et coll., 2005). L'enzyme SOD et la catalase ont été transférées pour renforcer les défenses antioxydantes (Selzner et coll., 2003). D'autres équipes ont développé des stratégies cytoprotectrices fondées sur l'expression de gènes tels HO-1 ou IL-13 (Ke et coll., 2004 ; Geuken et coll., 2005). Des tentatives de modulation de la réponse inflammatoire par inhibition de NF- $\kappa$ B ont été également faites (Fan et coll., 1999).

Ces résultats expérimentaux sont prometteurs mais ne doivent pas occulter les nombreux problèmes inhérents à la technique de thérapie génique : une efficacité limitée des vecteurs utilisés pour la transfection et la difficulté d'augmenter l'expression de protéines au moment et au site approprié, un problème de « *timing* » car la thérapie doit être réalisée plusieurs jours avant



le prélèvement, ou encore un risque de cytotoxicité (par exemple, l'expression de HO-1 peut être parfois spontanément élevée) (Casillas-Ramirez et coll., 2006).

### **Stratégies spécifiques à un type de donneurs (donneurs aux « critères élargis »)**

Le prétraitement du donneur représente également un moyen d'augmenter le pool de donneurs en améliorant la viabilité des organes sub-optimaux.

#### ***Foies stéatosiques***

La stéatose hépatique est rencontrée dans 6 à 24 % des greffons cadavériques. Sa forme sévère (plus de 60 % d'infiltration) est associée à un taux élevé de dysfonction et diminue significativement la survie à un an (Yoong et coll., 1999). Le mécanisme qui expliquerait la plus faible tolérance de ces greffons à l'ischémie semble être lié à des perturbations de la microcirculation hépatique et à un dysfonctionnement mitochondrial (Fukumori et coll., 1997 et 1999).

Les solutions IGL-1 et Polysol (en cours de développement) semblent être plus performantes que les solutions actuellement utilisées en pratique clinique pour la conservation des greffons stéatosiques (Ben et coll., 2006 ; Hata et coll., 2007).

Le prétraitement pharmacologique des donneurs pourrait également permettre d'améliorer la survie de ces greffons hépatiques marginaux. Nakano et coll. (1997) ont ainsi observé que l'administration de N-acétyl cystéine (NAC), un précurseur de glutathion, avant la phase de conservation permettait de protéger l'intégrité de la microcirculation du foie stéatosique.

Toujours en situation expérimentale, il a été montré que le préconditionnement à l'ischémie permettait d'augmenter également la tolérance des foies surchargés en dépôts lipidiques (Niemann et coll., 2005).

#### ***Donneurs à cœur arrêté***

L'intérêt dans l'utilisation des donneurs à cœur arrêté comme source potentielle de greffon hépatique s'est considérablement accru ces dernières années. Bien que les résultats des premières expériences soient encourageants, un taux élevé de non-fonction primaire et une survie du greffon plus faible sont observés. Dans le but d'amener un plus grand nombre de ces organes à la transplantation, le prétraitement pharmacologique du donneur représente une approche intéressante afin de renforcer la tolérance de ces foies pour lesquels les effets délétères de l'ischémie chaude sont exacerbés par la période de conservation hypothermique et la reperfusion à suivre. En situation expérimentale, il a été montré que des drogues comme TAK-044

(un antagoniste des récepteurs de l'endothéline) (Fukunaga et coll., 1998), Nicaraven (un piègeur de radicaux libres) (Yokota et coll., 2000), ou encore lazaroid (un inhibiteur de la peroxydation lipidique) (Xu et coll., 1996) avaient un effet bénéfique lorsqu'elles étaient administrées chez le donneur avant l'ischémie chaude. Cependant, ces drogues ne sont pas faciles à manier et leur coût est si élevé que leur utilisation en clinique ne s'est pas encore concrétisée. *A contrario*, la pentoxifylline est un composé bon marché. Il s'agit d'un inhibiteur de phosphodiesterase qui agirait en prévenant la libération par les cellules de Kupffer de cytokines pro-inflammatoires (Zabel et coll., 1993). Des équipes ont pu observer que le prétraitement des donneurs avec cet inhibiteur réduisait significativement les dommages hépatocellulaires et surtout autorisait de meilleurs taux de survie par rapport aux animaux non traités. Cependant, aucune étude clinique n'a encore confirmé ces résultats positifs chez le donneur à cœur arrêté (Astarcioglu et coll., 2000 ; Qing et coll., 2006).

### Conditionnement du receveur

Le traitement du receveur représente une autre stratégie visant à diminuer les lésions de préservation/reperfusion et améliorer ainsi les résultats de la transplantation hépatique.

Ainsi, l'administration intraveineuse de biliverdine (produit du métabolisme de l'hème) chez le receveur juste avant et quelques heures après l'implantation du greffon semble avoir des effets cytoprotecteurs puissants, se traduisant par une amélioration significative de la survie des animaux (Fondevila et coll., 2004). Cet effet bénéfique serait lié à l'inhibition de l'expression de iNOS et de cytokines telles que IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, mais aussi à l'induction de l'expression de molécules anti-apoptotiques. D'autres équipes ont montré que l'apport exogène de monoxyde de carbone (CO) par inhalation chez le receveur, dans les heures qui entourent la greffe, était également bénéfique (Kaizu et coll., 2005 et 2008). Une suppression de l'expression de gènes précoces de l'inflammation ainsi que la diminution de l'infiltration par les neutrophiles étaient observées chez les animaux traités. Les mécanismes sous-jacents impliqueraient une régulation négative par la voie de MEK/ERK1/2.

### Perfusion hypothermique du greffon

La conservation par perfusion hypothermique représente un autre concept de conservation des greffons hépatiques. En situation expérimentale, de nombreux travaux ont montré la supériorité de cette méthode sur l'IF (Pienaar et coll., 1990 ; Kim et coll., 1997 ; Compagnon et coll., 2001 ; Bessems et coll., 2006 ; Dutkowski et coll., 2006). Cette technique consiste

à perfuser en continue le greffon par ses vaisseaux afférents, en hypothermie et en oxygénant le perfusé.

La perfusion hypothermique apporte plusieurs avantages :

- le maintien des capacités de synthèse en ATP (Boudjema et coll., 1991 ; Fujita et coll., 1993 ; Kim et coll., 1997) ou en métabolites indispensables et du pouvoir antioxydant des cellules (Meister et Anderson, 1983) ;
- l'élimination des produits de dégradation du métabolisme qui peuvent s'accumuler à des concentrations toxiques dans les tissus, autorisant entre autres un meilleur contrôle du pH intracellulaire ;
- un moyen de délivrer de façon continue aux tissus des substrats métaboliques (adénosine, ribose, phosphate...) ou d'autres agents cytoprotecteurs tels que des antioxydants ou des inhibiteurs enzymatiques (St Peter et coll., 2002).

La perfusion hypothermique représente également un bon moyen de « récupérer » des greffons ayant subi des périodes d'ischémie chaude prolongée, car prélevés sur des donneurs à cœur arrêté. Cette technique offre en effet la possibilité de « post-conditionner » ces greffons endommagés (Lee et coll., 2003 ; Bessems et coll., 2005b ; Manekeller et Minor 2006). Ce « post-conditionnement » de foies ayant été exposés à une ischémie chaude demeure efficace même après une période intermédiaire de conservation en IF (Manekeller et Minor, 2006).

Sur le plan technique, une perfusion de type pulsatile ou continue peut être utilisée indifféremment pour la veine porte (Dutkowski et coll., 1998). Qui plus est, il semble exister une grande tolérance hépatique aux variations de pression de perfusion par la veine porte (van der Plaats et coll., 2004). Pour l'artère hépatique, il semble préférable d'avoir recours à une perfusion de type pulsatile. En effet, la perfusion continue induirait une augmentation de 15 % des résistances vasculaires et impliquerait donc d'augmenter la pression de perfusion pour maintenir une pression de perfusion identique (Mandelbaum et coll., 1965). Si le réseau veineux est choisi comme voie de perfusion unique, il a été montré que les performances de la perfusion par les veines sus-hépatiques étaient superposables à celles de la perfusion par la veine porte pour des durées de conservation de 24 et 48 heures (Compagnon et coll., 2001). Comparée à l'IF, la perfusion hypothermique permettait une moindre souffrance des cellules parenchymateuses et non parenchymateuses, un maintien voire une augmentation des capacités antioxydantes du greffon et une meilleure préservation du statut énergétique en fin de conservation.

L'application clinique de la conservation des greffons hépatiques par perfusion hypothermique est encore au stade d'étude de faisabilité. Malgré l'ensemble de ces données en faveur de la supériorité de la machine à perfuser, l'ischémie froide demeure la seule méthode employée en clinique. Une telle pratique s'explique par les contraintes logistiques non négligeables qu'impose la perfusion.

Dans cet esprit, il convient d'édifier maintenant un cahier des charges d'une machine de perfusion susceptible par sa simplicité de répondre aux exigences de la pratique quotidienne. La perfusion hypothermique pourrait représenter un moyen d'évaluer la viabilité des greffons avant transplantation. Les paramètres hémodynamiques (débit de perfusion, résistance...) et la libération d'enzymes intracellulaires ou autres métabolites dans le perfusé pourraient en effet apporter des informations essentielles, surtout en cas de greffon « marginal ». La perfusion hypothermique offrirait ainsi l'opportunité d'augmenter avec plus de sécurité le nombre d'organes utilisables.

### Perfusion normothermique

Quelques équipes vont à contre-courant du principe de base que constitue l'hypothermie pour la conservation des organes en concentrant leur effort sur la perfusion normothermique (Jamieson et Friend, 2006). Deux approches différentes sont actuellement explorées, d'une part la recirculation *in situ* et d'autre part la perfusion *ex vivo*.

La méthode *in situ*, qui utilise un système de bypass cardiopulmonaire, a été testée dans différents modèles d'ischémie chaude chez le gros animal (porc). Des résultats positifs ont été observés en termes de fonctionnalité et de survie des animaux après transplantation (Valero et coll., 1998 et 2000 ; Net et coll., 2005). Cette technique permet en outre l'analyse de la viabilité des greffons, en autorisant l'utilisation de paramètres de viabilité tels que le débit sanguin hépatique ou les ratios d'extraction en oxygène (Valero et coll., 1998). L'analyse histologique des greffons chez les animaux en vie a cependant montré que tous présentaient des lésions biliaires de type nécrose ischémique irréversible, compromettant ainsi une survie à long terme. La même équipe a montré par la suite que l'adjonction de drogues cytoprotectrices (L-Arginine, adénosine...) permettait de diminuer significativement le degré des lésions biliaires (Valero et coll., 2000 ; Net et coll., 2005).

La perfusion normothermique *ex vivo* est plus complexe à mettre en œuvre sur le plan technique. De nombreux travaux ont montré sa supériorité sur l'IF dans des modèles de transplantation à cœur arrêté (Schön et coll., 2001 ; Reddy et coll., 2004 ; Brasile et coll., 2005). Ces travaux insistent sur la nécessité de développer une machine de perfusion portable afin de pouvoir appliquer la perfusion normothermique d'emblée et éviter ainsi d'imposer au greffon une phase intermédiaire d'ischémie froide avant la perfusion chaude. Bien qu'elle puisse offrir des avantages pour les greffons marginaux, la perfusion normothermique reste une entreprise complexe nécessitant une grande expertise à sa mise en œuvre ainsi qu'un monitoring continu par un personnel très entraîné, autant d'éléments qui limitent fortement son application clinique pour l'instant.

**En conclusion**, l'unique objectif de la conservation d'organe dans le domaine de la transplantation est de fournir au receveur un greffon dont la qualité lui permettra d'assurer à la fois une bonne reprise de fonction et la survie à long terme.

Les lésions hépatiques d'ischémie/reperfusion (I/R) représentent un processus complexe et multifactoriel dans lequel de multiples médiateurs et diverses cellules interagissent. Ces lésions peuvent aboutir à la mort cellulaire et finalement à la dysfonction de l'organe.

Le succès de la conservation en ischémie froide est étroitement lié à la simplicité de la méthode. Les performances de cette technique de conservation repose essentiellement sur l'inhibition du métabolisme par l'hypothermie, la suppression de l'œdème cellulaire grâce aux agents imperméants et la stimulation du métabolisme énergétique lors de la reperfusion grâce à des précurseurs de la synthèse d'ATP mais aussi sur une courte durée de conservation. Cependant, le taux de dysfonction primaire des greffons demeure élevé. La simplicité de la conservation en ischémie froide constitue également un de ses inconvénients. Cette méthode n'est en effet pas très adaptée pour la conservation des greffons « aux critères élargis ». Depuis 10 ans, l'approche commune pour améliorer la qualité de la conservation d'organe s'est fondée sur le concept d'une modification ponctuelle des solutions originales. Ces adjonctions de molécules n'ont pas souvent trouvé le chemin de l'application clinique, les résultats observés chez l'animal ne se confirmant pas systématiquement chez l'homme. On peut alors sérieusement se poser la question de savoir si nous n'avons pas tout simplement atteint les limites de la conservation en ischémie froide. La reformulation des solutions de conservation n'est peut-être pas le meilleur moyen d'améliorer significativement la fonction immédiate du greffon et de nouvelles approches sont actuellement explorées.

La première idée est de considérer que la tolérance de l'organe à l'ischémie/reperfusion pourrait être améliorée en prétraitant le donneur. Les différentes stratégies du prétraitement du donneur incluent une protection directe à l'aide de drogues administrées au donneur avec l'idée d'inhiber des molécules délétères, de renforcer des voies métaboliques protectrices, la thérapie génique et des interventions chirurgicales comme le préconditionnement à l'ischémie. Des résultats bénéfiques sur la survie de la greffe ont été obtenus par la protection directe du donneur mais la spécificité du traitement reste réduite. Le mécanisme d'action des agents pharmacologiques testés en situation expérimentale est encore mal cerné et leur spécificité réduite. Bien que la thérapie génique soit séduisante, de nombreux problèmes d'ordre pratique et éthique accompagnent cette stratégie thérapeutique. Actuellement, les stratégies chirurgicales comme le préconditionnement ischémique sont les plus prometteuses et les seules également à pouvoir être envisagées pour une application clinique de routine.

L'autre idée est fondée sur le fait que l'anoxie plutôt que les caractéristiques physicochimiques des solutions pourrait constituer le facteur limitant à toute amélioration : la conservation en perfusion hypothermique continue représentant alors le seul moyen de maintenir cet apport en oxygène au niveau de l'organe réfrigéré. Cette technique permet en outre d'éliminer les produits toxiques accumulés dans le tissu hépatique, de contrôler le pH cellulaire, de délivrer des agents cytoprotecteurs et d'améliorer la viabilité des organes sub-optimaux par un « postconditionnement ». Elle est actuellement au stade d'étude de faisabilité en clinique.

## BIBLIOGRAPHIE

ADAM R, ARNAULT I, BAO YM, SALVUCCI M, SEBAGH M, BISMUTH H. Effect of ischemic preconditioning on hepatic tolerance to cold ischemia in the rat. *Transpl Int* 1998, **11** (suppl 1) : 168-170

AMBIRU S, URYUHARA K, TALPE S, DEHOUX JP, JACOBBI L, et coll. Improved survival of orthotopic liver allograft in swine by addition of trophic factors to University of Wisconsin solution. *Transplantation* 2004, **77** : 302-319

ANDERSON BO, BROWN JM, HARKEN AH. Mechanisms of neutrophil-mediated tissue injury. *J Surg Res* 1991, **51** : 170-179

ANTHUBER M, FARKAS S, RIHL M, MENGER MD, JAUCH KW, et coll. Conditioning of liver grafts by donor bolus pretreatment with epoprostenol. *Transplantation* 1996, **62** : 13-17

ANUNDI I, KING J, OWEN DA, SCHNEIDER H, LEMASTERS JJ, THURMAN RG. Fructose prevents hypoxic cell death in liver. *Am J Physiol* 1987, **253** : 390-396

ARAI M, PENG XX, CURRIN RT, THURMAN RG, LEMASTERS JJ. Protection of sinusoidal endothelial cells against storage/reperfusion injury by prostaglandin E2 derived from Kupffer cells. *Transplantation* 1999, **68** : 440-445

ARAI M, THURMAN RG, LEMASTERS JJ. Contribution of adenosine A(2) receptors and cyclic adenosine monophosphate to protective ischemic preconditioning of sinusoidal endothelial cells against Storage/Reperfusion injury in rat livers. *Hepatology* 2000, **32** : 297-302

ASTARCIOGLU H, KARADEMIR S, UNEK T, OZER E, MENEKAY S, et coll. Beneficial effects of pentoxifylline pretreatment in non-heart-beating donors in rats. *Transplantation* 2000, **69** : 93-98

AZOULAY D, DEL GAUDIO M, ANDREANI P, ICHAI P, SEBAG M, et coll. Effects of 10 minutes of ischemic preconditioning of the cadaveric liver on the graft's preservation and function: the ying and the yang. *Ann Surg* 2005, **242** : 133-139

BANGA NR, HOMER-VANNIASINKAM S, GRAHAM A, AL-MUKHTAR A, WHITE SA, PRASAD KR. Ischaemic preconditioning in transplantation and major resection of the liver. *Br J Surg* 2005, **92** : 528-538

BARRIER A, OLAYA N, CHIAPPINI F, ROSER F, SCATTON O, et coll. Ischemic preconditioning modulates the expression of several genes, leading to the overproduction of IL-1Ra, iNOS, and Bcl-2 in a human model of liver ischemia-reperfusion. *FASEB J* 2005, **19** : 1617-1626

BAUTISTA AP, SPITZER JJ. Platelet activating factor stimulates and primes the liver, Kupffer cells and neutrophils to release superoxide anion. *Free Radic Res Commun* 1992, **17** : 195-209

BELZER FO, SOUTHARD JH. Principles of solid-organ preservation by cold storage. *Transplantation* 1988, **45** : 673-676

BEN ABDENNEBI H, STEGHENS JP, HADJ-AISSA A, BARBIEUX A, RAMELLA-VIRIEUX S, et coll. A preservation solution with polyethylene glycol and calcium: a possible multiorgan liquid. *Transpl Int* 2002, **15** : 348-354

BEN MOSBAH I, ROSELLÓ-CATAFAU J, FRANCO-GOU R, ABDENNEBI HB, SAIDANE D, et coll. Preservation of steatotic livers in IGL-1 solution. *Liver Transpl* 2006, **12** : 1215-1223

BENNETT-GUERRERO E, FEIERMAN DE, BARCLAY GR, PARIDES MK, SHEINER PA, et coll. Preoperative and intraoperative predictors of postoperative morbidity, poor graft function, and early rejection in 190 patients undergoing liver transplantation. *Arch Surg* 2001, **136** : 1177-1183

BENYON RC, ARTHUR MJ. Extracellular matrix degradation and the role of hepatic stellate cells. *Semin Liver Dis* 2001, **21** : 373-384

BERBERAT PO, FRIESS H, SCHMIED B, KREMER M, GRAGERT S, et coll. Differentially expressed genes in postperfusion biopsies predict early graft dysfunction after liver transplantation. *Transplantation* 2006, **82** : 699-704

BESSEMS M, DOORSCHODT BM, VAN VLIET AK, VAN GULIK TM. Improved rat liver preservation by hypothermic continuous machine perfusion using polysol, a new, enriched preservation solution. *Liver Transpl* 2005a, **11** : 539-546

BESSEMS M, DOORSCHODT BM, VAN MARLE J, VREELING H, MEIJER AJ, VAN GULIK TM. Improved machine perfusion preservation of the non-heart-beating donor rat liver using Polysol: a new machine perfusion preservation solution. *Liver Transpl* 2005b, **11** : 1379-1388

BESSEMS M, DOORSCHODT BM, DINANT S, DE GRAAF W, VAN GULIK TM. Machine perfusion preservation of the pig liver using a new preservation solution, polysol. *Transplant Proc* 2006, **38** : 1238-1242

BILBAO G, CONTRERAS JL, ECKHOFF DE, MIKHEEVA G, KRASNYKH V, et coll. Reduction of ischemia-reperfusion injury of the liver by in vivo adenovirus-mediated gene transfer of the antiapoptotic Bcl-2 gene. *Ann Surg* 1999, **230** : 185-193

BILZER M, JAESCHKE H, VOLLMAR AM, PAUMGARTNER G, GERBES AL. Prevention of Kupffer cell-induced oxidant injury in rat liver by atrial natriuretic peptide. *Am J Physiol* 1999, **276** : 1137-1144

BITTNER HB, CHEN EP, BISWAS SS, VAN TRIGT P 3RD, DAVIS RD. Right ventricular dysfunction after cardiac transplantation: primarily related to status of donor heart.

BOROS P, BROMBERG JS. New cellular and molecular immune pathways in ischemia/reperfusion injury. *Am J Transplant* 2006, **6** : 652-658

BOROZAN I, CHEN L, SUN J, TANNIS LL, GUINDI M, et coll. Gene expression profiling of acute liver stress during living donor liver transplantation. *Am J Transplant* 2006, **6** : 806-824

BORS W, MICHEL C, SARAN M, LENGFELDER E. The involvement of oxygen radicals during the autoxidation of adrenalin. *Biochim Biophys Acta* 1978, **540** : 162-172

BOUDJEMA K, VAN GULIK TM, LINDELL SL, VREUGDENHIL PS, SOUTHARD JH, BELZER FO. Effect of oxidized and reduced glutathione in liver preservation. *Transplantation* 1990a, **50** : 948-951

BOUDJEMA K, LINDELL SL, SOUTHARD JH, BELZER FO. The effects of fasting on the quality of liver preservation by simple cold storage. *Transplantation* 1990b, **50** : 943-948

BOUDJEMA K, LINDELL SL, BELZER FO, SOUTHARD JH. Effects of method of preservation on functions of livers from fed and fasted rabbits. *Cryobiology* 1991, **28** : 227-236

BRADHAM CA, SCHEMMER P, STACHLEWITZ RF, THURMAN RG, BRENNER DA. Activation of nuclear factor-kappaB during orthotopic liver transplantation in rats is protective and does not require Kupffer cells. *Liver Transpl Surg* 1999, **5** : 282-293

BRASILE L, STUBENITSKY BM, HAISCH CE, KON M, KOOTSTRA G. Repair of damaged organs in vitro. *Am J Transplant* 2005, **5** : 300-306

BRETSCHNEIDER HJ. Myocardial protection. *Thorac Cardiovasc Surg* 1980, **28** : 295-302

BUNN HF, POYTON RO. Oxygen sensing and molecular adaptation to hypoxia. *Physiol Rev* 1996, **76** : 839-885

BUSUTTIL RW, SHAKED A, MILLIS JM, JURIM O, COLQUHOUN SD, et coll. One thousand liver transplants. The lessons learned. *Ann Surg* 1994, **219** : 490-497

CALDWELL CC, TSCHOEP J, LENTSCH AB. Lymphocyte function during hepatic ischemia/reperfusion injury. *J Leukoc Biol* 2007, **82** : 457-464

CALDWELL-KENKEL JC, THURMAN RG, LEMASTERS JJ. Selective loss of nonparenchymal cell viability after cold ischemic storage of rat livers. *Transplantation* 1988, **45** : 834-837

CALDWELL-KENKEL JC, CURRIN RT, TANAKA Y, THURMAN RG, LEMASTERS JJ. Reperfusion injury to endothelial cells following cold ischemic storage of rat livers. *Hepatology* 1989, **10** : 292-299

CALMUS Y, CYNOBER L, DOUSSET B, LIM SK, SOUBRANE O, et coll. Evidence for the detrimental role of proteolysis during liver preservation in humans. *Gastroenterology* 1995, **108** : 1510-1516

CARINI R, ALBANO E. Recent insights on the mechanisms of liver preconditioning. *Gastroenterology* 2003, **125** : 1480-1491

CARINI R, GRAZIA DE CESARIS M, SPLENDORE R, ALBANO E. Stimulation of p38 MAP kinase reduces acidosis and Na(+) overload in preconditioned hepatocytes. *FEBS Lett* 2001, **491** : 180-183



CARINI R, GRAZIA DE CESARIS M, SPLENDORE R, DOMENICOTTI C, NITTI MP, et coll. Signal pathway responsible for hepatocyte preconditioning by nitric oxide. *Free Radic Biol Med* 2003a, **34** : 1047-1055

CARINI R, DE CESARIS MG, SPLENDORE R, DOMENICOTTI C, NITTI MP, et coll. Mechanisms of hepatocyte protection against hypoxic injury by atrial natriuretic peptide. *Hepatology* 2003b, **37** : 277-285

CARRASCO L, SANCHEZ-BUENO F, SOLA J, RUIZ JM, RAMIREZ P, et coll. Effects of cold ischemia time on the graft after orthotopic liver transplantation. A bile cytological study. *Transplantation* 1996, **61** : 393-396

CASILLAS-RAMIREZ A, MOSBAH IB, RAMALHO F, ROSELLO-CATAFAU J, PERALTA C. Past and future approaches to ischemia-reperfusion lesion associated with liver transplantation. *Life Sci* 2006, **79** : 1881-1894

CAVALLARI A, CILLO U, NARDO B, FILIPPONI F, GRINGERI E, et coll. A multicenter pilot prospective study comparing Celsior and University of Wisconsin preserving solutions for use in liver transplantation. *Liver Transpl* 2003, **9** : 814-821

CESCON M, GRAZI GL, GRASSI A, RAVAIOLI M, VETRONE G, et coll. Effect of ischemic preconditioning in whole liver transplantation from deceased donors. A pilot study. *Liver Transpl* 2006, **12** : 628-635

CHARRUEAU C, BLONDE-CYNOBER F, COUDRAY-LUCAS C, POUPON R, CHAUMEIL JC, et coll. Prevention of proteolysis in cold-stored rat liver by addition of amino acids to the preservation solution. *J Gastroenterol Hepatol* 2000, **15** : 1199-1204

CHEN C, JOHNSTON TD, WU G, RANJAN D. Curcumin has potent liver preservation properties in an isolated perfusion model. *Transplantation* 2006, **82** : 931-937

CHEN H, PENG CH, SHEN BY, DENG XX, SHEN C, et coll. Multi-factor analysis of initial poor graft function after orthotopic liver transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2007, **6** : 141-146

CHURCHILL TA, CHEETHAM KM, FULLER BJ. Glycolysis and energy metabolism in rat liver during warm and cold ischemia: evidence of an activation of the regulatory enzyme phosphofructokinase. *Cryobiology* 1994, **31** : 441-452

CLAVIEN PA. Sinusoidal endothelial cell injury during hepatic preservation and reperfusion. *Hepatology* 1998, **28** : 281-285

CLAVIEN PA, HARVEY PR, STRASBERG SM. Preservation and reperfusion injuries in liver allografts. An overview and synthesis of current studies. *Transplantation* 1992, **53** : 957-978

CLAVIEN PA, HARVEY PR, SANABRIA JR, CYWES R, LEVY GA, STRASBERG SM. Lymphocyte adherence in the reperfused rat liver: mechanisms and effects. *Hepatology* 1993, **17** : 131-142

CLAVIEN PA, YADAV S, SINDRAM D, BENTLEY RC. Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans. *Ann Surg* 2000, **232** : 155-162

COLLETTI LM, BURTCH GD, REMICK DG, KUNKEL SL, STRIETER RM, et coll. The production of tumor necrosis factor alpha and the development of a pulmonary capillary injury following hepatic ischemia/reperfusion. *Transplantation* 1990, **49** : 268-272

COLLETTI LM, KUNKEL SL, WALZ A, BURDICK MD, KUNKEL RG, et coll. The role of cytokine networks in the local liver injury following hepatic ischemia/reperfusion in the rat. *Hepatology* 1996, **23** : 506-514

COLLETTI LM, CORTIS A, LUKACS N, KUNKEL SL, GREEN M, STRIETER RM. Tumor necrosis factor up-regulates intercellular adhesion molecule 1, which is important in the neutrophil-dependent lung and liver injury associated with hepatic ischemia and reperfusion in the rat. *Shock* 1998, **10** : 182-191

COMPAGNON P, CLEMENT B, CAMPION JP, BOUDJEMA K. Effects of hypothermic machine perfusion on rat liver function depending on the route of perfusion. *Transplantation* 2001, **72** : 606-614

COMPAGNON P, WANG H, LINDELL SL, AMETANI MS, MANGINO MJ, et coll. Brain death does not affect hepatic allograft function and survival after orthotopic transplantation in a canine model. *Transplantation* 2002a, **73** : 1218-1227

COMPAGNON P, WANG HB, SOUTHARD JH, MANGINO MJ. Ischemic preconditioning in a rodent hepatocyte model of liver hypothermic preservation injury. *Cryobiology* 2002b, **44** : 269-278

COMPAGNON P, LINDELL S, AMETANI MS, GILLIGAN B, WANG HB, et coll. Ischemic preconditioning and liver tolerance to warm or cold ischemia: experimental studies in large animals. *Transplantation* 2005, **79** : 1393-1400

CONTI A, SCALA S, D'AGOSTINO P, ALIMENTI E, MORELLI D, et coll. Wide gene expression profiling of ischemia-reperfusion injury in human liver transplantation. *Liver Transpl* 2007, **13** : 99-113

CORRADINI SG, MICHELETTA F, NATOLI S, IAPPELLI M, DI ANGELANTONIO E, et coll. High preoperative recipient plasma 7beta-hydroxycholesterol is associated with initial poor graft function after liver transplantation. *Liver Transpl* 2005, **11** : 1494-1504

CURSIO R, GUGENHEIM J, RICCI JE, CRENESSE D, ROSTAGNO P, et coll. A caspase inhibitor fully protects rats against lethal normothermic liver ischemia by inhibition of liver apoptosis. *Faseb J* 1999, **13** : 253-261

CURZIO M, ESTERBAUER H, DI MAURO C, CECCHINI G, DIANZANI MU. Chemotactic activity of the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal and homologous hydroxyalkenals. *Biol Chem Hoppe Seyler* 1986, **367** : 321-329

CYWES R, GREIG PD, SANABRIA JR, CLAVIEN PA, LEVY GA, et coll. Effect of intraportal glucose infusion on hepatic glycogen content and degradation, and outcome of liver transplantation. *Ann Surg* 1992, **216** : 235-246

CYWES R, PACKHAM MA, TIETZE L, SANABRIA JR, HARVEY PR, et coll. Role of platelets in hepatic allograft preservation injury in the rat. *Hepatology* 1993, **18** : 635-647

DAVIS JM, GUTE DC, JONES S, KRSMANOVIC A, KORTHUIS RJ. Ischemic preconditioning prevents postischemic P-selectin expression in the rat small intestine. *Am J Physiol* 1999, **277** : 2476-2481

DEFAMIE V, LAURENS M, PATRONO D, DEVEL L, BRAULT A, et coll. Matrix metalloproteinase inhibition protects rat livers from prolonged cold ischemia-warm reperfusion injury. *Hepatology* 2008, **47** : 177-185

DESCHENES M, BELLE SH, KROM RA, ZETTERMAN RK, LAKE JR. Early allograft dysfunction after liver transplantation: a definition and predictors of outcome. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Liver Transplantation Database. *Transplantation* 1998, **66** : 302-310

DU ZY, HICKS M, WINLAW D, SPRATT P, MACDONALD P. Ischemic preconditioning enhances donor lung preservation in the rat. *J Heart Lung Transplant* 1996, **15** : 1258-1267

DUTKOWSKI P, ODERMATT B, HEINRICH T, SCHÖNFELD S, WATZKA M, et coll. Hypothermic oscillating liver perfusion stimulates ATP synthesis prior to transplantation. *J Surg Res* 1998, **80** : 365-372

DUTKOWSKI P, GRAF R, CLAVIEN PA. Rescue of the cold preserved rat liver by hypothermic oxygenated machine perfusion. *Am J Transplant* 2006, **6** : 903-912

EMADALI A, MUSCATELLI-GROUX B, DELOM F, JENNA S, BOISMENU D, et coll. Proteomic analysis of ischemia-reperfusion injury upon human liver transplantation reveals the protective role of IQGAP1. *Mol Cell Proteomics* 2006, **5** : 1300-1313

EMADALI A, METRAKOS PP, KALANTARI F, BOUTROS T, BOISMENU D, CHEVET E. Proteomic analysis of tyrosine phosphorylation during human liver transplantation. *Proteome Sci* 2007, **5** : 1

ERHARD J, LANGE R, SCHERER R, KOX WJ, BRETSCHEIDER HJ, et coll. Comparison of histidine-tryptophan-ketoglutarate (HTK) solution versus University of Wisconsin (UW) solution for organ preservation in human liver transplantation. A prospective, randomized study. *Transpl Int* 1994, **7** : 177-181

ESSANI NA, MCGUIRE GM, MANNING AM, JAESCHKE H. Endotoxin-induced activation of the nuclear transcription factor kappa B and expression of E-selectin messenger RNA in hepatocytes, Kupffer cells, and endothelial cells in vivo. *J Immunol* 1996, **156** : 2956-2963

ESSANI NA, BAJT ML, FARHOOD A, VONDERFECHT SL, JAESCHKE H. Transcriptional activation of vascular cell adhesion molecule-1 gene in vivo and its role in the pathophysiology of neutrophil-induced liver injury in murine endotoxin shock. *J Immunol* 1997a, **158** : 5941-5948

ESSANI NA, FISHER MA, JAESCHKE H. Inhibition of NF-kappa B activation by dimethyl sulfoxide correlates with suppression of TNF-alpha formation, reduced ICAM-1 gene transcription, and protection against endotoxin-induced liver injury. *Shock* 1997b, **7** : 90-96

FAN C, ZWACKA RM, ENGELHARDT JF. Therapeutic approaches for ischemia/reperfusion injury in the liver. *J Mol Med* 1999, **77** : 577-592

FAOUZI S, BURCKHARDT BE, HANSON JC, CAMPE CB, SCHRUM LW, et coll. Anti-Fas induces hepatic chemokines and promotes inflammation by an NF-kappa B-independent, caspase-3-dependent pathway. *J Biol Chem* 2001, **276** : 49077-49082

FARHOOD A, MCGUIRE GM, MANNING AM, MIYASAKA M, SMITH CW, JAESCHKE H. Intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) expression and its role in neutrophil-induced ischemia-reperfusion injury in rat liver. *J Leukoc Biol* 1995, **57** : 368-374

FERGUSON DM, GORES GJ, LUDWIG J, KROM RA. UW solution protects against reperfusion injury by inhibiting lipid peroxidation. *Transplant Proc* 1991, **23** : 1552-1553

FERGUSON DM, GORES GJ, BRONK SF, KROM RA. An increase in cytosolic protease activity during liver preservation. Inhibition by glutathione and glycine. *Transplantation* 1993, **55** : 627-633

FERNANDEZ L, HEREDIA N, GRANDE L, GÓMEZ G, RIMOLA A, et coll. Preconditioning protects liver and lung damage in rat liver transplantation: role of xanthine/xanthine oxidase. *Hepatology* 2002, **36** : 562-572

FOLKMAN J. Seminars in Medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Clinical applications of research on angiogenesis. *N Engl J Med* 1995, **333** : 1757-1763

FONDEVILA C, SHEN XD, TSUCHIYASHI S, YAMASHITA K, CSIZMADIA E, et coll. Biliverdin therapy protects rat livers from ischemia and reperfusion injury. *Hepatology* 2004, **40** : 1333-1341

FUDABA Y, OHDAN H, TASHIRO H, ITO H, FUKUDA Y, et coll. Geranylgeranylacetone, a heat shock protein inducer, prevents primary graft nonfunction in rat liver transplantation. *Transplantation* 2001, **72** : 184-189

FUJITA S, HAMAMOTO I, NAKAMURA K, TANAKA K, OZAWA K. Isolated perfusion of rat livers: effect of temperature on O<sub>2</sub> consumption, enzyme release, energy store, and morphology. *Nippon Geka Hokan* 1993, **62** : 58-70

FUKUMORI T, OHKOHCHI N, TSUKAMOTO S, SATOMI S. Why is fatty liver unsuitable for transplantation? Deterioration of mitochondrial ATP synthesis and sinusoidal structure during cold preservation of a liver with steatosis. *Transplant Proc* 1997, **29** : 412-415

FUKUMORI T, OHKOHCHI N, TSUKAMOTO S, SATOMI S. The mechanism of injury in a steatotic liver graft during cold preservation. *Transplantation* 1999, **67** : 195-200

FUKUNAGA K, TAKADA Y, TANIGUCHI H, YUZAWA K, OTSUKA M, et coll. Protecting the viability of hepatic allografts procured from non-heart-beating donors by blockade of endothelin and platelet activating factor in porcine liver transplantation. *Int Surg* 1998, **83** : 226-231

FULLER BJ. The effect of cooling on mammalian cells. In : Clinical applications of cryobiology. FULLER BJ (ed). Boca Raton, CRC press, 1991 : 1-22

FUNAKI H, SHIMIZU K, HARADA S, TSUYAMA H, FUSHIDA S, et coll. Essential role for nuclear factor kappaB in ischemic preconditioning for ischemia-reperfusion injury of the mouse liver. *Transplantation* 2002, **74** : 551-556

FUSAI G, DHALIWAL P, ROLANDO N, SABIN CA, PATCH D, et coll. Incidence and risk factors for the development of prolonged and severe intrahepatic cholestasis after liver transplantation. *Liver Transpl* 2006, **12** : 1626-1633

GAO W, WASHINGTON MK, BENTLEY RC, CLAVIEN PA. Antiangiogenic agents protect liver sinusoidal lining cells from cold preservation injury in rat liver transplantation. *Gastroenterology* 1997, **113** : 1692-1700

GAO W, BENTLEY RC, MADDEN JF, CLAVIEN PA. Apoptosis of sinusoidal endothelial cells is a critical mechanism of preservation injury in rat liver transplantation. *Hepatology* 1998, **27** : 1652-1660

GARRIDO C, GURBUXANI S, RAVAGNAN L, KROEMER G. Heat shock proteins: endogenous modulators of apoptotic cell death. *Biochem Biophys Res Commun* 2001, **286** : 433-442

GASBARRINI A, BORLE AB, FARGHALI H, BENDER C, FRANCAVILLA A, VAN THIEL D. Effect of anoxia on intracellular ATP, Na<sup>+</sup>i, Ca<sup>2+</sup>i, Mg<sup>2+</sup>i, and cytotoxicity in rat hepatocytes. *J Biol Chem* 1992, **267** : 6654-6663

GAUTHIER TW, DAVENPECK KL, LEFER AM. Nitric oxide attenuates leukocyte-endothelial interaction via P-selectin in splanchnic ischemia-reperfusion. *Am J Physiol* 1994, **267** : 562-568

GEUKEN E, BUIS CI, VISSER DS, BLOKZIJJ H, MOSHAGE H, et coll. Expression of heme oxygenase-1 in human livers before transplantation correlates with graft injury and function after transplantation. *Am J Transplant* 2005, **5** : 1875-1885

GLANEMANN M, VOLLMAR B, NUSSLER AK, SCHAEFER T, NEUHAUS P, MENGER MD. Ischemic preconditioning protects from hepatic ischemia/reperfusion-injury by preservation of microcirculation and mitochondrial redox-state. *J Hepatol* 2003, **38** : 59-66

GORES GJ, NIEMINEN AL, FLEISHMAN KE, DAWSON TL, HERMAN B, LEMASTERS JJ. Extracellular acidosis delays onset of cell death in ATP-depleted hepatocytes. *Am J Physiol* 1988, **255** : 315-322

GORES GJ, NIEMINEN AL, WRAY BE, HERMAN B, LEMASTERS JJ. Intracellular pH during "chemical hypoxia" in cultured rat hepatocytes. Protection by intracellular acidosis against the onset of cell death. *J Clin Invest* 1989, **83** : 386-396

GUJRAL JS, BUCCI TJ, FARHOOD A, JAESCHKE H. Mechanism of cell death during warm hepatic ischemia-reperfusion in rats: apoptosis or necrosis? *Hepatology* 2001, **33** : 397-405

GUJRAL JS, KNIGHT TR, FARHOOD A, BAJT ML, JAESCHKE H. Mode of cell death after acetaminophen overdose in mice: apoptosis or oncotic necrosis? *Toxicol Sci* 2002, **67** : 322-328

HATA K, TOLBA RH, WEI L, BÜTTNER R, YAMAMOTO Y, MINOR T. Impact of polysol, a newly developed preservation solution, on cold storage of steatotic rat livers. *Liver Transpl* 2007, **13** : 114-121

HAWALESHKA A, JACOBSON E. Ischaemic preconditioning: mechanisms and potential clinical applications. *Can J Anaesth* 1998, **45** : 670-682

HERTL M, CHARTRAND PB, WEST DD, HARVEY PR, STRASBERG SM. The effects of hepatic preservation at 0 degrees C compared to 5 degrees C: influence of antiproteases and periodic flushing. *Cryobiology* 1994, **31** : 434-440

HERTL M, HARVEY PR, SWANSON PE, WEST DD, HOWARD TK, et coll. Evidence of preservation injury to bile ducts by bile salts in the pig and its prevention by infusions of hydrophilic bile salts. *Hepatology* 1995, **21** : 1130-1137

HETZ H, FAYBIK P, BERLAKOVICH G, BAKER A, BACHER A, et coll. Molecular adsorbent recirculating system in patients with early allograft dysfunction after liver transplantation: a pilot study. *Liver Transpl* 2006, **12** : 1357-1364

HIOKI O, MINEMURA M, SHIMIZU Y, KASII Y, NISHIMORI H, et coll. Expression and localization of basic fibroblast growth factor (bFGF) in the repair process of rat liver injury. *J Hepatol* 1996, **24** : 217-224

HOGLEN NC, ANSELMO DM, KATORI M, KALDAS M, SHEN XD, et coll. A caspase inhibitor, IDN-6556, ameliorates early hepatic injury in an ex vivo rat model of warm and cold ischemia. *Liver Transpl* 2007, **13** : 361-366

HOLLOWAY CM, HARVEY PR, STRASBERG SM. Viability of sinusoidal lining cells in cold-preserved rat liver allografts. *Transplantation* 1990, **49** : 225-229

HOLZMULLER P, WINKLMAYR E, RECKENDORFER H, SPERLICH M, MOSER E. Influence of warm ischemia on cold-stored, University of Wisconsin solution-protected rat liver: investigation by <sup>1</sup>H-nuclear magnetic resonance relaxometry. *Transplant Proc* 1993, **25** : 1902-1903

HOTTER G, CLOSA D, PRADOS M, FERNÁNDEZ-CRUZ L, PRATS N, et coll. Intestinal preconditioning is mediated by a transient increase in nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun* 1996, **222** : 27-32

HOWELL JG, ZIBARI GB, BROWN MF, BURNEY DL, SAWAYA DE, et coll. Both ischemic and pharmacological preconditioning decrease hepatic leukocyte/endothelial cell interactions. *Transplantation* 2000, **69** : 300-303

HSU CM, WANG JS, LIU CH, CHEN LW. Kupffer cells protect liver from ischemia-reperfusion injury by an inducible nitric oxide synthase-dependent mechanism. *Shock* 2002, **17** : 280-285

HUGHES H, FARHOOD A, JAESCHKE H. Role of leukotriene B4 in the pathogenesis of hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1992, **45** : 113-119

HUOT J, HOULE F, SPITZ DR, LANDRY J. HSP27 phosphorylation-mediated resistance against actin fragmentation and cell death induced by oxidative stress. *Cancer Res* 1996, **56** : 273-279

HUR GM, RYU YS, YUN HY, JEON BH, KIM YM, et coll. Hepatic ischemia/reperfusion in rats induces iNOS gene transcription by activation of NF-kappaB. *Biochem Biophys Res Commun* 1999, **261** : 917-922

IKEDA T, YANAGA K, KISHIKAWA K, KAKIZOE S, SHIMADA M, SUGIMACHI K. Ischemic injury in liver transplantation: difference in injury sites between warm and cold ischemia in rats. *Hepatology* 1992, **16** : 454-461

ITASAKA H, SUEHIRO T, WAKIYAMA S, YANAGA K, SHIMADA M, SUGIMACHI K. The mechanism of hepatic graft protection against reperfusion injury by prostaglandin E1. *Surg Today* 1999, **29** : 526-532

JACOBSSON J, SUNDBERG R, VALDIVIA LA, STARZL TE. Liver preservation with lidoflazine and the University of Wisconsin solution: a dose-finding study. *Transplantation* 1993, **56** : 472-475

JAESCHKE H. Reactive oxygen and ischemia/reperfusion injury of the liver. *Chem Biol Interact* 1991, **79** : 115-136

JAESCHKE H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury. *J Gastroenterol Hepatol* 2000, **15** : 718-724

JAESCHKE H. Xanthine oxidase-induced oxidant stress during hepatic ischemia-reperfusion: are we coming full circle after 20 years? *Hepatology* 2002a, **36** : 761-763

JAESCHKE H. Inflammation in response to hepatocellular apoptosis. *Hepatology* 2002b, **35** : 964-966

JAESCHKE H. Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003, **284** : 15-26

JAESCHKE H, FARHOOD A. Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Am J Physiol* 1991, **260** : 355-362

JAESCHKE H, LEMASTERS JJ. Apoptosis versus oncotic necrosis in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Gastroenterology* 2003, **125** : 1246-1257

JAESCHKE H, FARHOOD A, BAUTISTA AP, SPOLARICS Z, SPITZER JJ. Complement activates Kupffer cells and neutrophils during reperfusion after hepatic ischemia. *Am J Physiol* 1993a, **264** : 801-809

JAESCHKE H, FARHOOD A, BAUTISTA AP, SPOLARICS Z, SPITZER JJ, SMITH CW. Functional inactivation of neutrophils with a Mac-1 (CD11b/CD18) monoclonal antibody protects against ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Hepatology* 1993b, **17** : 915-923

JAESCHKE H, FARHOOD A, FISHER MA, SMITH CW. Sequestration of neutrophils in the hepatic vasculature during endotoxemia is independent of beta 2 integrins and intercellular adhesion molecule-1. *Shock* 1996, **6** : 351-356

JAESCHKE H, HO YS, FISHER MA, LAWSON JA, FARHOOD A. Glutathione peroxidase-deficient mice are more susceptible to neutrophil-mediated hepatic parenchymal cell injury during endotoxemia: importance of an intracellular oxidant stress. *Hepatology* 1999, **29** : 443-450

JAMIESON RW, FRIEND PJ. Normothermic Organ Preservation. *Transplantation Review* 2006, **20** : 172-178

JASSEM W, KOO DD, CERUNDOLO L, RELA M, HEATON ND, FUGGLE SV. Leukocyte infiltration and inflammatory antigen expression in cadaveric and living-donor livers before transplant. *Transplantation* 2003, **75** : 2001-2007

JASSEM W, FUGGLE SV, CERUNDOLO L, HEATON ND, RELA M. Ischemic preconditioning of cadaver donor livers protects allografts following transplantation. *Transplantation* 2006, **81** : 169-174

KAIZU T, NAKAO A, TSUNG A, TOYOKAWA H, SAHAI R, et coll. Carbon monoxide inhalation ameliorates cold ischemia/reperfusion injury after rat liver transplantation. *Surgery* 2005, **138** : 229-235

KAIZU T, IKEDA A, NAKAO A, TSUNG A, TOYOKAWA H, et coll. Protection of transplant-induced hepatic ischemia/reperfusion injury with carbon monoxide via MEK/ERK1/2 pathway downregulation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008, **294** : G236-G244

KALAYOGLU M, SOLLINGER HW, STRATTA RJ, D'ALESSANDRO AM, HOFFMANN RM, et coll. Extended preservation of the liver for clinical transplantation. *Lancet* 1988, **1** : 617-619

KAMIKE W, BURDELSKI M, STEINHOFF G, RINGE B, LAUCHART W, PICHLMAYR R. Adenine nucleotide metabolism and its relation to organ viability in human liver transplantation. *Transplantation* 1988, **45** : 138-143

KARAM G, COMPAGNON P, HOURMANT M, DESPINS P, DUVEAU D, et coll. A single solution for multiple organ procurement and preservation. *Transpl Int* 2005, **18** : 657-663

KATO Y, SHIMAZU M, KONDO M, UCHIDA K, KUMAMOTO Y, et coll. Bilirubin rinse: A simple protectant against the rat liver graft injury mimicking heme oxygenase-1 preconditioning. *Hepatology* 2003, **38** : 364-373

KATORI M, BUSUTTIL RW, KUPIEC-WEGLINSKI JW. Heme oxygenase-1 system in organ transplantation. *Transplantation* 2002, **74** : 905-912

KAWAMOTO S, INOUE M, TASHIRO S, MORINO Y, MIYAUCHI Y. Inhibition of ischemia and reflow-induced liver injury by an SOD derivative that circulates bound to albumin. *Arch Biochem Biophys* 1990, **277** : 160-165

KE B, SHEN XD, GAO F, BUSUTTIL RW, KUPIEC-WEGLINSKI JW. Interleukin 13 gene transfer in liver ischemia and reperfusion injury: role of Stat6 and TLR4 pathways in cytoprotection. *Hum Gene Ther* 2004, **15** : 691-698

KENNEDY EM, WOOD RP, SHAW BW, JR. Primary nonfunction. Is there a contribution from the back table bath? *Transplantation* 1990, **49** : 739-743

KERR JF, WYLLIE AH, CURRIE AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972, **26** : 239-257

KIEMER AK, VOLLMAR AM, BILZER M, GERWIG T, GERBES AL. Atrial natriuretic peptide reduces expression of TNF-alpha mRNA during reperfusion of the rat liver upon decreased activation of NF-kappaB and AP-1. *J Hepatol* 2000, **33** : 236-246

KIM JS, SOUTHARD JH. Alteration in cellular calcium and mitochondrial functions in the rat liver during cold preservation. *Transplantation* 1998, **65** : 369-375

KIM JS, BOUDJEMA K, D'ALESSANDRO A, SOUTHARD JH. Machine perfusion of the liver: maintenance of mitochondrial function after 48-hour preservation. *Transplant Proc* 1997, **29** : 3452-3454

KIM JS, QIAN T, LEMASTERS JJ. Mitochondrial permeability transition in the switch from necrotic to apoptotic cell death in ischemic rat hepatocytes. *Gastroenterology* 2003, **124** : 494-503



KIM SK, BELZER FO, SOUTHARD JH. Loss of mitochondrial respiratory function and its suppression during cold ischemic preservation of rat livers with University of Wisconsin solution. *Hepatology* 1992, **16** : 742-748

KIM YI, HWANG YJ, SONG KE, YUN YK, LEE JW, CHUN BY. Hepatocyte protection by a protease inhibitor against ischemia/reperfusion injury of human liver. *J Am Coll Surg* 2002, **195** : 41-50

KIMURA H, KATSURAMAKI T, ISOBE M, NAGAYAMA M, MEGURO M, et coll. Role of inducible nitric oxide synthase in pig liver transplantation. *J Surg Res* 2003, **111** : 28-37

KLEIN M, GEOGHEGAN J, WANGEMANN R, BOCKLER D, SCHMIDT K, SCHEELE J. Preconditioning of donor livers with prostaglandin I2 before retrieval decreases hepatocellular ischemia-reperfusion injury. *Transplantation* 1999, **67** : 1128-1132

KOHLI V, GAO W, CAMARGO CA, JR., CLAVIEN PA. Calpain is a mediator of preservation-reperfusion injury in rat liver transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997, **94** : 9354-9359

KOHLI V, SELZNER M, MADDEN JF, BENTLEY RC, CLAVIEN PA. Endothelial cell and hepatocyte deaths occur by apoptosis after ischemia-reperfusion injury in the rat liver. *Transplantation* 1999, **67** : 1099-1105

KONERU B, FISHER A, HE Y, KLEIN KM, SKURNICK J, et coll. Ischemic preconditioning in deceased donor liver transplantation: a prospective randomized clinical trial of safety and efficacy. *Liver Transpl* 2005, **11** : 196-202

KOO DD, WELSH KI, MCLAREN AJ, ROAKE JA, MORRIS PJ, FUGGLE SV. Cadaver versus living donor kidneys: impact of donor factors on antigen induction before transplantation. *Kidney Int* 1999, **56** : 1551-1559

KOTI RS, SEIFALIAN AM, MCBRIDE AG, YANG W, DAVIDSON BR. The relationship of hepatic tissue oxygenation with nitric oxide metabolism in ischemic preconditioning of the liver. *Faseb J* 2002, **16** : 1654-1656

KUME M, YAMAMOTO Y, SAAD S, IWASAKI W, UCHINAMI H, et coll. Ischemic preconditioning of the liver in rats: implications of heat shock protein induction to increase tolerance of ischemia-reperfusion injury. *J Lab Clin Med* 1996, **128** : 251-258

LAND WG. The role of postischemic reperfusion injury and other nonantigen-dependent inflammatory pathways in transplantation. *Transplantation* 2005, **79** : 505-514

LANG F, BUSCH GL, GULBINS E. Physiology of cell survival and cell death: implications for organ conservation. *Nephrol Dial Transplant* 1995, **10** : 1551-1555

LANIR A, JENKINS RL, CALDWELL C, LEE RG, KHETTRY U, CLOUSE ME. Hepatic transplantation survival: correlation with adenine nucleotide level in donor liver. *Hepatology* 1988, **8** : 471-475

LE MOINE O, DEVIÈRE J, GOLDMAN M. The inflammatory cascade of liver ischemia and reperfusion: from the donor to the recipient. In : *Organ Allocation*. TOURAINE JL (ed). 1998 : 181-208

LE MOINE O, LOUIS H, DEMOLS A, DESALLE F, DEMOOR F, et coll. Cold liver ischemia-reperfusion injury critically depends on liver T cells and is improved by donor pretreatment with interleukin 10 in mice. *Hepatology* 2000, **31** : 1266-1274

LEE CY, JAIN S, DUNCAN HM, ZHANG JX, JONES JW JR, et coll. Survival transplantation of preserved non-heart-beating donor rat livers: preservation by hypothermic machine perfusion. *Transplantation* 2003, **76** : 1432-1436

LEIST M, GANTNER F, BOHLINGER I, GERMANN PG, TIEGS G, WENDEL A. Murine hepatocyte apoptosis induced in vitro and in vivo by TNF-alpha requires transcriptional arrest. *J Immunol* 1994, **153** : 1778-1788

LEMASTERS JJ, THURMAN RG. Reperfusion injury after liver preservation for transplantation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1997, **37** : 327-338

LEMASTERS JJ, DIGUISEPPI J, NIEMINEN AL, HERMAN B. Blebbing, free Ca<sup>2+</sup> and mitochondrial membrane potential preceding cell death in hepatocytes. *Nature* 1987, **325** : 78-81

LEMASTERS JJ, NIEMINEN AL, QIAN T, TROST LC, ELMORE SP, et coll. The mitochondrial permeability transition in cell death: a common mechanism in necrosis, apoptosis and autophagy. *Biochim Biophys Acta* 1998, **1366** : 177-196

LENTSCH AB, YOSHIDOME H, CHEADLE WG, MILLER FN, EDWARDS MJ. Chemokine involvement in hepatic ischemia/reperfusion injury in mice: roles for macrophage inflammatory protein-2 and KC. *Hepatology* 1998a, **27** : 1172-1177

LENTSCH AB, YOSHIDOME H, CHEADLE WG, MILLER FN, EDWARDS MJ. Chemokine involvement in hepatic ischemia/reperfusion injury in mice: roles for macrophage inflammatory protein-2 and Kupffer cells. *Hepatology* 1998b, **27** : 507-512

LENTSCH AB, YOSHIDOME H, KATO A, WARNER RL, CHEADLE WG, et coll. Requirement for interleukin-12 in the pathogenesis of warm hepatic ischemia/reperfusion injury in mice. *Hepatology* 1999a, **30** : 1448-1453

LENTSCH AB, YOSHIDOME H, WARNER RL, WARD PA, EDWARDS MJ. Secretory leukocyte protease inhibitor in mice regulates local and remote organ inflammatory injury induced by hepatic ischemia/reperfusion. *Gastroenterology* 1999b, **117** : 953-961

LENTSCH AB, KATO A, YOSHIDOME H, MCMASTERS KM, EDWARDS MJ. Inflammatory mechanisms and therapeutic strategies for warm hepatic ischemia/reperfusion injury. *Hepatology* 2000, **32** : 169-173

LI XK, MATIN AF, SUZUKI H, UNO T, YAMAGUCHI T, HARADA Y. Effect of protease inhibitor on ischemia/reperfusion injury of the rat liver. *Transplantation* 1993, **56** : 1331-1336

LIN H, YAMAMOTO Y, OKAMOTO R, UEDA J, YAMAMOTO S, et coll. Hepatic functional difference between brain death hypotension and hypovolemic hypotension in liver donation. *Transplant Proc* 1989a, **21** : 2389-2391

LIN H, OKAMOTO R, YAMAMOTO Y, MAKI A, UEDA J, et coll. Hepatic tolerance to hypotension as assessed by the changes in arterial ketone body ratio in the state of brain death. *Transplantation* 1989b, **47** : 444-448

LIU H, LO CR, CZAJA MJ. NF-kappaB inhibition sensitizes hepatocytes to TNF-induced apoptosis through a sustained activation of JNK and c-Jun. *Hepatology* 2002, **35** : 772-778

LLORIS-CARSI JM, CEJALVO D, TOLEDO-PEREYRA LH, CALVO MA, SUZUKI S. Preconditioning: effect upon lesion modulation in warm liver ischemia. *Transplant Proc* 1993, **25** : 3303-3304

LUSTER AD. Chemokines--chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N Engl J Med* 1998, **338** : 436-445

MAEDA T, MURASE N, SUBBOTIN V, SAKAMOTO T, YAMADA T, et coll. Analogs of cyclic nucleotides in rat liver preservation. *Transplantation* 1998, **66** : 844-851

MANDELBAUM I, BERRY J, SILBERT M, BURNS WH, ROTHE C. Regional blood flow during pulsatile and nonpulsatile perfusion. *Arch Surg* 1965, **91** : 771-774

MANEKELLER S, MINOR T. Possibility of conditioning predamaged grafts after cold storage: influences of oxygen and nutritive stimulation. *Transpl Int* 2006, **19** : 667-674

MARTIKAINEN P, KYPRIANOU N, TUCKER RW, ISAACS JT. Programmed death of non-proliferating androgen-independent prostatic cancer cells. *Cancer Res* 1991, **51** : 4693-4700

MARTIN DR, SCOTT DF, DOWNES GL, BELZER FO. Primary cause of unsuccessful liver and heart preservation: cold sensitivity of the ATPase system. *Ann Surg* 1972, **175** : 111-117

MATSUDA T, YAMAGUCHI Y, MATSUMURA F, AKIZUKI E, OKABE K, et coll. Immunosuppressants decrease neutrophil chemoattractant and attenuate ischemia/reperfusion injury of the liver in rats. *J Trauma* 1998, **44** : 475-484

MATSUMOTO K, HONDA K, KOBAYASHI N. Protective effect of heat preconditioning of rat liver graft resulting in improved transplant survival. *Transplantation* 2001, **71** : 862-868

MATSUMOTO T, O'MALLEY K, EFRON PA, BURGER C, MCAULIFFE PF, et coll. Interleukin-6 and STAT3 protect the liver from hepatic ischemia and reperfusion injury during ischemic preconditioning. *Surgery* 2006, **140** : 793-802

MCANULTY JF, REID TW, WALLER KR, MURPHY CJ. Successful six-day kidney preservation using trophic factor supplemented media and simple cold storage. *Am J Transplant* 2002, **2** : 712-718

MCCUSKEY RS. Morphological mechanisms for regulating blood flow through hepatic sinusoids. *Liver* 2000, **20** : 3-7

MCKEOWN CM, EDWARDS V, PHILLIPS MJ, HARVEY PR, PETRUNKA CN, STRASBERG SM. Sinusoidal lining cell damage: the critical injury in cold preservation of liver allografts in the rat. *Transplantation* 1988, **46** : 178-191

MCNALLY SJ, HARRISON EM, ROSS JA, GARDEN OJ, WIGMORE SJ. Curcumin induces heme oxygenase-1 in hepatocytes and is protective in simulated cold preservation and warm reperfusion injury. *Transplantation* 2006, **81** : 623-626

MENASCHE P, PIWNICA A. Free radicals and myocardial protection: a surgical viewpoint. *Ann Thorac Surg* 1989, **47** : 939-945

MENASCHE P, TERMIGNON JL, PRADIER F, GROUSSET C, MOUAS C, et coll. Experimental evaluation of Celsior, a new heart preservation solution. *Eur J Cardiothorac Surg* 1994, **8** : 207-213

MERTES PM. Physiology of brain death. In : Transplantation biology: cellular and molecular aspects. TILNEY N, STROM T, PAUL L (eds). Philadelphia, Raven, 1996 : 275

MOCHIDA S, ARAI M, OHNO A, MASAKI N, OGATA I, FUJIWARA K. Oxidative stress in hepatocytes and stimulatory state of Kupffer cells after reperfusion differ between warm and cold ischemia in rats. *Liver* 1994, **14** : 234-240

MORGAN GR, SANABRIA JR, CLAVIEN PA, PHILLIPS MJ, EDWARDS C, et coll. Correlation of donor nutritional status with sinusoidal lining cell viability and liver function in the rat. *Transplantation* 1991, **51** : 1176-1183

MOTOYAMA S, MINAMIYA Y, SAITO S, SAITO R, MATSUZAKI I, et coll. Hydrogen peroxide derived from hepatocytes induces sinusoidal endothelial cell apoptosis in perfused hypoxic rat liver. *Gastroenterology* 1998, **114** : 153-163

MURRY CE, JENNINGS RB, REIMER KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986, **74** : 1124-1136

NAGENDRA AR, MICKELSON JK, SMITH CW. CD18 integrin and CD54-dependent neutrophil adhesion to cytokine-stimulated human hepatocytes. *Am J Physiol* 1997, **272** : 408-416

NAKANO H, BOUDJEMA K, ALEXANDRE E, IMBS P, CHENARD MP, et coll. Protective effects of N-acetylcysteine on hypothermic ischemia-reperfusion injury of rat liver. *Hepatology* 1995, **22** : 539-545

NAKANO H, NAGASAKI H, BARAMA A, BOUDJEMA K, JAECK D, et coll. The effects of N-acetylcysteine and anti-intercellular adhesion molecule-1 monoclonal antibody against ischemia-reperfusion injury of the rat steatotic liver produced by a choline-methionine-deficient diet. *Hepatology* 1997, **26** : 670-678

NAKAYAMA H, YAMAMOTO Y, KUME M, YAMAGAMI K, YAMAMOTO H, et coll. Pharmacologic stimulation of adenosine A2 receptor supplants ischemic preconditioning in providing ischemic tolerance in rat livers. *Surgery* 1999, **126** : 945-954

NATORI S, FUJII Y, KUROSAWA H, NAKANO A, SHIMADA H. Prostaglandin E1 protects against ischemia-reperfusion injury of the liver by inhibition of neutrophil adherence to endothelial cells. *Transplantation* 1997, **64** : 1514-1520

NATORI S, SELZNER M, VALENTINO KL, FRITZ LC, SRINIVASAN A, et coll. Apoptosis of sinusoidal endothelial cells occurs during liver preservation injury by a caspase-dependent mechanism. *Transplantation* 1999, **68** : 89-96

NET M, VALERO R, ALMENARA R, BARROS P, CAPDEVILA L, et coll. The effect of normothermic recirculation is mediated by ischemic preconditioning in NHBD liver transplantation. *Am J Transplant* 2005, **5** : 2385-2392

NIEMANN CU, HIROSE R, LIU T, BEHREND M, BROWN JL, et coll. Ischemic preconditioning improves energy state and transplantation survival in obese Zucker rat livers. *Anesth Analg* 2005, **101** : 1577-1583

NIEMINEN AL, BYRNE AM, HERMAN B, LEMASTERS JJ. Mitochondrial permeability transition in hepatocytes induced by t-BuOOH: NAD(P)H and reactive oxygen species. *Am J Physiol* 1997, **272** : 1286-1294

NIEMINEN AL, GORES GJ, WRAY BE, TANAKA Y, HERMAN B, LEMASTERS JJ. Calcium dependence of bleb formation and cell death in hepatocytes. *Cell Calcium* 1988, **9** : 237-246

NILSSON B, FRIMAN S, GUSTAFSSON BI, DELBRO DS. Preconditioning protects against ischemia/reperfusion injury of the liver. *J Gastrointest Surg* 2000, **4** : 44-49

NOACK K, BRONK SF, KATO A, GORES GJ. The greater vulnerability of bile duct cells to reoxygenation injury than to anoxia. Implications for the pathogenesis of biliary strictures after liver transplantation. *Transplantation* 1993, **56** : 495-500

NOHL H, GILLE L, KOZLOV A, STANIEK K. Are mitochondria a spontaneous and permanent source of reactive oxygen species? *Redox Rep* 2003, **8** : 135-141

NUNES FA, KUMAR C, CHANCE B, BRASS CA. Chemiluminescent measurement of increased free radical formation after ischemia/reperfusion. Mechanisms of free radical formation in the liver. *Dig Dis Sci* 1995, **40** : 1045-1053

OGASAWARA J, WATANABE-FUKUNAGA R, ADACHI M, MATSUZAWA A, KASUGAI T, et coll. Lethal effect of the anti-Fas antibody in mice. *Nature* 1993, **364** : 806-809

OH CK, SAWYER RG, PELLETIER SJ, PRUETT TL, SANFEY HA. Independent predictors for primary non-function after liver transplantation. *Yonsei Med J* 2004, **45** : 1155-1161

OHKOHCHI N, ENDOH T, OIKAWA K, SEYA K, SATOMI S. Fragility of the electron transport chain and superoxide generation in mitochondria of the liver graft after cold ischemia. *Transplantation* 1999, **67** : 1173-1177

OKAMOTO S, CORSO CO, NOLTE D, RASCHER W, THIERY J, et coll. Impact of brain death on hormonal homeostasis and hepatic microcirculation of transplant organ donors. *Transpl Int* 1998, **11** (suppl 1) : 404-407

OKAMOTO S, CORSO CO, KONDO T, LEIDERER R, RASCHER W, et coll. Changes in hepatic microcirculation and histomorphology in brain-dead organ donors: an experimental study in rats. *Eur J Surg* 1999, **165** : 759-766

OKUAKI Y, MIYAZAKI H, ZENIYA M, ISHIKAWA T, OHKAWA Y, et coll. Splenectomy-reduced hepatic injury induced by ischemia/reperfusion in the rat. *Liver* 1996, **16** : 188-194

OLLINGER R, WANG H, YAMASHITA K, WEGIEL B, THOMAS M, et coll. Therapeutic applications of bilirubin and biliverdin in transplantation. *Antioxid Redox Signal* 2007, **9** : 2175-2185

OTTO G, WOLFF H, DAVID H. Preservation damage in liver transplantation: electron-microscopic findings. *Transplant Proc* 1984, **16** : 1247-1248

PAHAN K, SMITH BT, SINGH AK, SINGH I. Cytochrome P-450 2E1 in rat liver peroxisomes: downregulation by ischemia/reperfusion-induced oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 1997, **23** : 963-971

PANNEN BH. New insights into the regulation of hepatic blood flow after ischemia and reperfusion. *Anesth Analg* 2002, **94** : 1448-1457

PERALTA C, CLOSA D, HOTTER G, GELPI E, PRATS N, ROSELLO-CATAFAU J. Liver ischemic preconditioning is mediated by the inhibitory action of nitric oxide on endothelin. *Biochem Biophys Res Commun* 1996, **229** : 264-270

PERALTA C, HOTTER G, CLOSA D, PRATS N, XAUS C, et coll. The protective role of adenosine in inducing nitric oxide synthesis in rat liver ischemia preconditioning is mediated by activation of adenosine A2 receptors. *Hepatology* 1999, **29** : 126-132

PERALTA C, BARTRONS R, RIERA L, MANZANO A, XAUS C, et coll. Hepatic preconditioning preserves energy metabolism during sustained ischemia. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000a, **279** : 163-171

PERALTA C, BULBENA O, BARGALLO R, PRATS N, GELPI E, ROSELLO-CATAFAU J. Strategies to modulate the deleterious effects of endothelin in hepatic ischemia-reperfusion. *Transplantation* 2000b, **70** : 1761-1770

PERALTA C, RULL R, RIMOLA A, DEULOFEU R, ROSELLÓ-CATAFAU J, et coll. Endogenous nitric oxide and exogenous nitric oxide supplementation in hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat. *Transplantation* 2001, **71** : 529-536

PERALTA C, BULBENA O, XAUS C, PRATS N, CUTRIN JC, et coll. Ischemic preconditioning: a defense mechanism against the reactive oxygen species generated after hepatic ischemia reperfusion. *Transplantation* 2002, **73** : 1203-1211

PIENAAR BH, LINDELL SL, VAN GULIK T, SOUTHARD JH, BELZER FO. Seventy-two-hour preservation of the canine liver by machine perfusion. *Transplantation* 1990, **49** : 258-260

PLOEG RJ, VAN BOCKEL JH, LANGENDIJK PT, GROENEWEGEN M, VAN DER WOUDE FJ, et coll. Effect of preservation solution on results of cadaveric kidney transplantation. The European Multicentre Study Group. *Lancet* 1992, **340** : 129-137

PLOEG RJ, D'ALESSANDRO AM, KNECHTLE SJ, STEGALL MD, PIRSCH JD, et coll. Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation—a multivariate analysis. *Transplantation* 1993, **55** : 807-813

POLLA BS, STUBBE H, KANTENGWA S, MARIDONNEAU-PARINI I, JACQUIER-SARLIN MR. Differential induction of stress proteins and functional effects of heat shock in human phagocytes. *Inflammation* 1995, **19** : 363-378

POLLA BS, KANTENGWA S, FRANCOIS D, SALVIOLI S, FRANCESCHI C, et coll. Mitochondria are selective targets for the protective effects of heat shock against oxidative injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996, **93** : 6458-6463

PORTE RJ, PLOEG RJ, HANSEN B, VAN BOCKEL JH, THOROGOOD J, et coll. Long-term graft survival after liver transplantation in the UW era: late effects of cold ischemia and primary dysfunction. European Multicentre Study Group. *Transpl Int* 1998, **11** (suppl 1) : S164-S167

PRATSCHKE J, WILHELM MJ, KUSAKA M, BEATO F, MILFORD EL, et coll. Accelerated rejection of renal allografts from brain-dead donors. *Ann Surg* 2000, **232** : 263-271

PRATSCHKE J, NEUHAUS P, TULLIUS SG. What can be learned from brain-death models? *Transpl Int* 2005, **18** : 15-21

PRUZANSKI W, VADAS P. Phospholipase A2—a mediator between proximal and distal effectors of inflammation. *Immunol Today* 1991, **12** : 143-146

QIAN T, NIEMINEN AL, HERMAN B, LEMASTERS JJ. Mitochondrial permeability transition in pH-dependent reperfusion injury to rat hepatocytes. *Am J Physiol* 1997, **273** : 1783-1792

QING DK, DONG JH, HAN BL, CHEN XR. Cold preservation of pig liver grafts with warm ischemia and pentoxifylline-UW solution. *Arch Med Res* 2006, **37** : 449-455

REDAELLI CA, TIAN YH, SCHAFFNER T, LEDERMANN M, BAER HU, DUFOUR JF. Extended preservation of rat liver graft by induction of heme oxygenase-1. *Hepatology* 2002, **35** : 1082-1092

REDDY SP, BHATTACHARJYA S, MANIAKIN N, GREENWOOD J, GUERREIRO D, et coll. Preservation of porcine non-heart-beating donor livers by sequential cold storage and warm perfusion. *Transplantation* 2004, **77** : 1328-1332

RENTSCH M, KIENLE K, MUELLER T, VOGEL M, JAUCH KW, et coll. Adenoviral bcl-2 transfer improves survival and early graft function after ischemia and reperfusion in rat liver transplantation. *Transplantation* 2005, **80** : 1461-1467

RICHTER C, SCHWEIZER M, COSSARIZZA A, FRANCESCHI C. Control of apoptosis by the cellular ATP level. *FEBS Lett* 1996, **378** : 107-110

RODRIGUEZ JV, GUIBERT EE, QUINTANA A, SCANDIZZI A, ALMADA L. Role of sodium nitroprusside in the improvement of rat liver preservation in University of Wisconsin solution: A study in the isolated perfused liver model. *J Surg Res* 1999, **87** : 201-208

ROSEN HR, MARTIN P, GOSS J, DONOVAN J, MELINEK J, et coll. Significance of early aminotransferase elevation after liver transplantation. *Transplantation* 1998, **65** : 68-72

RUBBO H, DARLEY-USMAR V, FREEMAN BA. Nitric oxide regulation of tissue free radical injury. *Chem Res Toxicol* 1996, **9** : 809-820

RUOSLAHTI E. RGD and other recognition sequences for integrins. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1996, **12** : 697-715

SANCHEZ-URDAZPAL L, GORES GJ, WARD EM, MAUS TP, WAHLSTROM HE, et coll. Ischemic-type biliary complications after orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 1992, **16** : 49-53

SANCHEZ-URDAZPAL L, GORES GJ, WARD EM, MAUS TP, BUCKEL EG, et coll. Diagnostic features and clinical outcome of ischemic-type biliary complications after liver transplantation. *Hepatology* 1993, **17** : 605-609

SAWAYA DE, JR., ZIBARI GB, MINARDI A, BILTON B, BURNEY D, et coll. P-selectin contributes to the initial recruitment of rolling and adherent leukocytes in hepatic venules after ischemia/reperfusion. *Shock* 1999, **12** : 227-232

SCAFFIDI C, FULDA S, SRINIVASAN A, FRIESEN C, LI F, et coll. Two CD95 (APO-1/Fas) signaling pathways. *Embo J* 1998, **17** : 1675-1687

SCHEMMER P, SCHOONHOVEN R, SWENBERG JA, BUNZENDAHL H, THURMAN RG. Gentle in situ liver manipulation during organ harvest decreases survival after rat liver transplantation: role of Kupffer cells. *Transplantation* 1998, **65** : 1015-1020

SCHÖN MR, KOLLMAR O, AKKOC N, MATTHES M, WOLF S, et coll. Cold ischemia affects sinusoidal endothelial cells while warm ischemia affects hepatocytes in liver transplantation. *Transplant Proc* 1998, **30** : 2318-2320

SCHÖN MR, KOLLMAR O, WOLF S, SCHREM H, MATTHES M, et coll. Liver transplantation after organ preservation with normothermic extracorporeal perfusion. *Ann Surg* 2001, **233** : 114-123

SCHULTZ RM, MARDER P, SPAETHE SM, HERRON DK, SOFIA MJ. Effects of two leukotriene B4 (LTB4) receptor antagonists (LY255283 and SC-41930) on LTB4-induced human neutrophil adhesion and superoxide production. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1991, **43** : 267-271

SCHULZ R, WALZ MK, BEHREND S, NEUMANN T, GERKEN G, HEUSCH G. Minimal protection of the liver by ischemic preconditioning in pigs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001, **280** : 198-207

SCOAZEC JY, BORGHI-SCOAZEC G, DURAND F, BERNUAU J, PHAM BN, et coll. Complement activation after ischemia-reperfusion in human liver allografts: incidence and pathophysiological relevance. *Gastroenterology* 1997, **112** : 908-918

SELZNER N, RUDIGER H, GRAF R, CLAVIEN PA. Protective strategies against ischemic injury of the liver. *Gastroenterology* 2003, **125** : 917-936

SERKOVA NJ, ZHANG Y, COATNEY JL, HUNTER L, WACHS ME, et coll. Early detection of graft failure using the blood metabolic profile of a liver recipient. *Transplantation* 2007, **83** : 517-521

SHAPPELL SB, TOMAN C, ANDERSON DC, TAYLOR AA, ENTMAN ML, SMITH CW. Mac-1 (CD11b/CD18) mediates adherence-dependent hydrogen peroxide production by human and canine neutrophils. *J Immunol* 1990, **144** : 2702-2711

SHEN XD, KE B, ZHAI Y, AMERSI F, GAO F, et coll. CD154-CD40 T-cell costimulation pathway is required in the mechanism of hepatic ischemia/reperfusion injury, and its blockade facilitates and depends on heme oxygenase-1 mediated cytoprotection. *Transplantation* 2002, **74** : 315-319

SHITO M, WAKABAYASHI G, UEDA M, SHIMAZU M, SHIRASUGI N, et coll. Interleukin 1 receptor blockade reduces tumor necrosis factor production, tissue injury, and mortality after hepatic ischemia-reperfusion in the rat. *Transplantation* 1997, **63** : 143-148

SINDRAM D, PORTE RJ, HOFFMAN MR, BENTLEY RC, CLAVIEN PA. Platelets induce sinusoidal endothelial cell apoptosis upon reperfusion of the cold ischemic rat liver. *Gastroenterology* 2000, **118** : 183-191



SINDRAM D, PORTE RJ, HOFFMAN MR, BENTLEY RC, CLAVIEN PA. Synergism between platelets and leukocytes in inducing endothelial cell apoptosis in the cold ischemic rat liver: a Kupffer cell-mediated injury. *Faseb J* 2001, **15** : 1230-1232

SOUTHARD JH, BELZER FO. The University of Wisconsin organ preservation solution: components, comparisons, and modifications. *Transplantation Review* 1993, **7** : 176-190

SOUTHARD JH, VAN GULIK TM, AMETANI MS, VREUGDENHIL PK, LINDELL SL, et coll. Important components of the UW solution. *Transplantation* 1990, **49** : 251-257

SQUIER MK, MILLER AC, MALKINSON AM, COHEN JJ. Calpain activation in apoptosis. *J Cell Physiol* 1994, **159** : 229-237

ST PETER SD, IMBER CJ, FRIEND PJ. Liver and kidney preservation by perfusion. *Lancet* 2002, **359** : 604-613

STRAATSBURG IH, BOERMEESTER MA, WOLBINK GJ, VAN GULIK TM, GOUMA DJ, et coll. Complement activation induced by ischemia-reperfusion in humans: a study in patients undergoing partial hepatectomy. *J Hepatol* 2000, **32** : 783-791

STUDER RK, BORLE AB. Na(+)-Ca<sup>2+</sup> antiporter activity of rat hepatocytes. Effect of adrenalectomy on Ca<sup>2+</sup> uptake and release from plasma membrane vesicles. *Biochim Biophys Acta* 1992, **1134** : 7-16

SUMIMOTO R, JAMIESON NV, KOBAYASHI T, FUKUDA Y, DOHI K, KAMADA N. The need for glutathione and allopurinol in HL solution for rat liver preservation. *Transplantation* 1991, **52** : 565-567

SUMIMOTO R, SOUTHARD JH, BELZER FO. Livers from fasted rats acquire resistance to warm and cold ischemia injury. *Transplantation* 1993, **55** : 728-732

SUZUKI S, TOLEDO-PEREYRA LH. Interleukin 1 and tumor necrosis factor production as the initial stimulants of liver ischemia and reperfusion injury. *J Surg Res* 1994, **57** : 253-258

SUZUKI S, TOLEDO-PEREYRA LH, RODRIGUEZ FJ, CEJALVO D. Neutrophil infiltration as an important factor in liver ischemia and reperfusion injury. Modulating effects of FK506 and cyclosporine. *Transplantation* 1993, **55** : 1265-1272

SZABO C. Multiple pathways of peroxynitrite cytotoxicity. *Toxicol Lett* 2003, **140-141** : 105-112

TAKADA M, NADEAU KC, HANCOCK WW, MACKENZIE HS, SHAW GD, et coll. Effects of explosive brain death on cytokine activation of peripheral organs in the rat. *Transplantation* 1998, **65** : 1533-1542

TAKEI Y, MARZI I, KAUFFMAN FC, CURRIN RT, LEMASTERS JJ, THURMAN RG. Increase in survival time of liver transplants by protease inhibitors and a calcium channel blocker, nisoldipine. *Transplantation* 1990, **50** : 14-20

TAUB R. Liver regeneration: from myth to mechanism. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004, **5** : 836-847

TIAN YH, SCHAFFER T, SCKELL A, SCHILLING MK. Adenosine deaminase inhibition attenuates reperfusion low flow and improves graft survival after rat liver transplantation. *Transplantation* 2000, **69** : 2277-2281

TODO S, HAMADA N, ZHU Y, ZHANG S, SUBBOTIN V, et coll. Lazaroid U-74389G for 48-hour canine liver preservation. *Transplantation* 1996, **61** : 189-194

TODOROKI N, WATANABE Y, AKAIKE T, KATAGIRI Y, TANOUE K, et coll. Enhancement by IL-1 beta and IFN-gamma of platelet activation: adhesion to leukocytes via GMP-140/PADGEM protein (CD62). *Biochem Biophys Res Commun* 1991, **179** : 756-761

TOKUNAGA Y, WICOMB WN, GARCIA-KENNEDY R, ESQUIVEL CO, COLLINS GM. The immunosuppressive effect of polyethylene glycol in a flush solution for rat liver transplantation. *Transplantation* 1992, **54** : 756-758

TOOSY N, MCMORRIS EL, GRACE PA, MATHIE RT. Ischaemic preconditioning protects the rat kidney from reperfusion injury. *BJU Int* 1999, **84** : 489-494

TOTSUKA E, TODO S, ZHU Y, ISHIZAKI N, KAWASHIMA Y, et coll. Attenuation of ischemic liver injury by prostaglandin E1 analogue, misoprostol, and prostaglandin I2 analogue, OP-41483. *J Am Coll Surg* 1998, **187** : 276-286

TOTSUKA E, FUNG JJ, URAKAMI A, MORAS N, ISHII T, et coll. Influence of donor cardiopulmonary arrest in human liver transplantation: possible role of ischemic preconditioning. *Hepatology* 2000, **31** : 577-580

TSUKADA T, EGUCHI K, MIGITA K, KAWABE Y, KAWAKAMI A, et coll. Transforming growth factor beta 1 induces apoptotic cell death in cultured human umbilical vein endothelial cells with down-regulated expression of bcl-2. *Biochem Biophys Res Commun* 1995, **210** : 1076-1082

UEMURA T, RANDALL HB, SANCHEZ EQ, IKEGAMI T, NARASIMHAN G, et coll. Liver retransplantation for primary nonfunction: analysis of a 20-year single-center experience. *Liver Transpl* 2007, **13** : 227-233

UPADHYA AG, HARVEY RP, HOWARD TK, LOWELL JA, SHENOY S, STRASBERG SM. Evidence of a role for matrix metalloproteinases in cold preservation injury of the liver in humans and in the rat. *Hepatology* 1997, **26** : 922-928

URATA K, BRAULT A, ROCHELEAU B, HUET PM. Role of Kupffer cells in the survival after rat liver transplantation with long portal vein clamping times. *Transpl Int* 2000, **13** : 420-427

VAIRETTI M, FERRIGNO A, BERTONE R, RIZZO V, RICHELMI P, et coll. Exogenous melatonin enhances bile flow and ATP levels after cold storage and reperfusion in rat liver: implications for liver transplantation. *J Pineal Res* 2005, **38** : 223-230

VAJDOVA K, GRAF R, CLAVIEN PA. ATP-supplies in the cold-preserved liver: A long-neglected factor of organ viability. *Hepatology* 2002, **36** : 1543-1552

VALERO R, GARCIA-VALDECASAS JC, TABEL J, TAURÁ P, RULL R, et coll. Hepatic blood flow and oxygen extraction ratio during normothermic recirculation and total body cooling as viability predictors in non-heart-beating donor pigs. *Transplantation* 1998, **66** : 170-176

VALERO R, GARCIA-VALDECASAS JC, NET M, BELTRAN J, ORDI J, et coll. L-arginine reduces liver and biliary tract damage after liver transplantation from non-heart-beating donor pigs. *Transplantation* 2000, **70** : 730-737

VAN DER HOEVEN JA, PLOEG RJ, POSTEMA F, MOLEMA I, DE VOS P, et coll. Induction of organ dysfunction and up-regulation of inflammatory markers in the liver and kidneys of hypotensive brain dead rats: a model to study marginal organ donors. *Transplantation* 1999, **68** : 1884-1890

VAN DER HOEVEN JA, TER HORST GJ, MOLEMA G, DE VOS P, GIRBES AR, et coll. Effects of brain death and hemodynamic status on function and immunologic activation of the potential donor liver in the rat. *Ann Surg* 2000a, **232** : 804-813

VAN DER HOEVEN JA, LINDELL SL, SOUTHARD JH, PLOEG RJ. Increased primary non-function and decreased survival due to brain death induced promotion of ischemia and reperfusion injury in liver transplantation. *Tranplantation* 2000b, **69** : S128

VAN DER PLAATS A, T HART NA, VERKERKE GJ, LEUVENINK HG, PLOEG RJ, RAKHORST G. Hypothermic machine preservation in liver transplantation revisited: concepts and criteria in the new millennium. *Ann Biomed Eng* 2004, **32** : 623-631

VAROTTI G, GRAZI GL, VETRONE G, ERCOLANI G, CESCO M, et coll. Causes of early acute graft failure after liver transplantation: analysis of a 17-year single-centre experience. *Clin Transplant* 2005, **19** : 492-500

VASQUEZ-VIVAR J, KALYANARAMAN B, MARTASEK P, HOGG N, MASTERS BS, et coll. Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998, **95** : 9220-9225

VOLLMAR B, GLASZ J, MENGER MD, MESSMER K. Leukocytes contribute to hepatic ischemia/reperfusion injury via intercellular adhesion molecule-1-mediated venular adherence. *Surgery* 1995, **117** : 195-200

WANG X. The expanding role of mitochondria in apoptosis. *Genes Dev* 2001, **15** : 2922-2933

WANG XH, WANG K, ZHANG F, LI XC, LI J, et coll. Heme oxygenase-1 alleviates ischemia/reperfusion injury in aged liver. *World J Gastroenterol* 2005, **11** : 690-694

WATT KD. Abnormal liver enzymes 2-3 months after liver transplantation in a patient with hepatitis C: Report of a case. *Liver Transpl* 2006, **12** : S29-S31

WATTIAUX R, WATTIAUX-DE CONINCK S. Effects of ischemia on lysosomes. *Int Rev Exp Pathol* 1984, **26** : 85-106

WEISS SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* 1989, **320** : 365-376

WILHELM MJ, PRATSCHKE J, LASKOWSKI IA, PAZ DM, TILNEY NL. Brain death and its impact on the donor heart-lessons from animal models. *J Heart Lung Transplant* 2000, **19** : 414-418

WINWOOD PJ, SCHUPPAN D, IREDALE JP, KAWSER CA, DOCHERTY AJ, ARTHUR MJ. Kupffer cell-derived 95-kd type IV collagenase/gelatinase B: characterization and expression in cultured cells. *Hepatology* 1995, **22** : 304-315

WU G, TOMEI LD, BATHURST IC, ZHANG F, HONG CB, et coll. Antiapoptotic compound to enhance hypothermic liver preservation. *Transplantation* 1997, **63** : 803-809

XU HS, STEVENSON WC, PRUETT TL, JONES RS. Donor lazaroïd pretreatment improves viability of livers harvested from non-heart-beating rats. *Am J Surg* 1996, **171** : 113-116

YABE Y, KOBAYASHI N, NISHIHASHI T, TAKAHASHI R, NISHIKAWA M, et coll. Prevention of neutrophil-mediated hepatic ischemia/reperfusion injury by superoxide dismutase and catalase derivatives. *J Pharmacol Exp Ther* 2001, **298** : 894-899

YADAV SS, SINDRAM D, PERRY DK, CLAVIEN PA. Ischemic preconditioning protects the mouse liver by inhibition of apoptosis through a caspase-dependent pathway. *Hepatology* 1999, **30** : 1223-1231

YAMAOKA Y, TAKI Y, GUBERNATIS G, NAKATANI T, OKAMOTO R, et coll. Evaluation of the liver graft before procurement. Significance of arterial ketone body ratio in brain-dead patients. *Transpl Int* 1990, **3** : 78-81

YAMAOKA Y, WASHIDA M, MANAKA D, GUBERNATIS G, RINGE B, et coll. Arterial ketone body ratio as a predictor of donor liver viability in human liver transplantation. *Transplantation* 1993, **55** : 92-95

YIN DP, SANKARY HN, CHONG AS, MA LL, SHEN J, et coll. Protective effect of ischemic preconditioning on liver preservation-reperfusion injury in rats. *Transplantation* 1998, **66** : 152-157

YIN XM. Bid, a critical mediator for apoptosis induced by the activation of Fas/TNF-R1 death receptors in hepatocytes. *J Mol Med* 2000, **78** : 203-211

YOKOTA R, FUKAI M, SHIMAMURA T, SUZUKI T, WATANABE Y, et coll. A novel hydroxyl radical scavenger, nicaraven, protects the liver from warm ischemia and reperfusion injury. *Surgery* 2000, **127** : 661-669

YOKOYAMA I, TODO S, MIYATA T, SELBY R, TZAKIS AG, STARZL TE. Endotoxemia and human liver transplantation. *Transplant Proc* 1989, **21** : 3833-3841

YOONG KF, GUNSON BK, NEIL DA, MIRZA DF, MAYER AD, et coll. Impact of donor liver microvesicular steatosis on the outcome of liver retransplantation. *Transplant Proc* 1999, **31** : 550-551

YOSHIDOME H, LENTSCH AB, CHEADLE WG, MILLER FN, EDWARDS MJ. Enhanced pulmonary expression of CXC chemokines during hepatic ischemia/reperfusion-induced lung injury in mice. *J Surg Res* 1999a, **81** : 33-37

YOSHIDOME H, KATO A, EDWARDS MJ, LENTSCH AB. Interleukin-10 suppresses hepatic ischemia/reperfusion injury in mice: implications of a central role for nuclear factor kappaB. *Hepatology* 1999b, **30** : 203-208

YOSHIDOME H, KATO A, MIYAZAKI M, EDWARDS MJ, LENTSCH AB. IL-13 activates STAT6 and inhibits liver injury induced by ischemia/reperfusion. *Am J Pathol* 1999c, **155** : 1059-1064

YOSHIZUMI T, YANAGA K, SOEJIMA Y, MAEDA T, UCHIYAMA H, SUGIMACHI K. Amelioration of liver injury by ischaemic preconditioning. *Br J Surg* 1998, **85** : 1636-1640

ZABEL P, SCHADE FU, SCHLAAK M. Inhibition of endogenous TNF formation by pentoxifylline. *Immunobiology* 1993, **187** : 447-463

ZHANG Y, YE QF, LU L, XU XL, MING YZ, XIAO JS. Panax notoginseng saponins preconditioning protects rat liver grafts from ischemia/reperfusion injury via an antiapoptotic pathway. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2005, **4** : 207-212

ZHENG L, FISHER G, MILLER RE, PESCHON J, LYNCH DH, LENARDO MJ. Induction of apoptosis in mature T cells by tumour necrosis factor. *Nature* 1995, **377** : 348-351

ZHOU W, MCCOLLUM MO, LEVINE BA, OLSON MS. Inflammation and platelet-activating factor production during hepatic ischemia/reperfusion. *Hepatology* 1992, **16** : 1236-1240

ZHU J, WANG S, BIE P, LI X, ZHANG Y, et coll. Apoptosis and regeneration of sinusoidal endothelial cells after extended cold preservation and transplantation of rat liver. *Transplantation* 2007, **84** : 1483-1491

ZWACKA RM, ZHANG Y, HALLDORSON J, SCHLOSSBERG H, DUDUS L, ENGELHARDT JF. CD4(+) T-lymphocytes mediate ischemia/reperfusion-induced inflammatory responses in mouse liver. *J Clin Invest* 1997, **100** : 279-289

ZWACKA RM, ZHOU W, ZHANG Y, DARBY CJ, DUDUS L, et coll. Redox gene therapy for ischemia/reperfusion injury of the liver reduces AP1 and NF-kappaB activation. *Nat Med* 1998, **4** : 698-704

## 9

## Syndrome d'ischémie/reperfusion et préservation en transplantation cardiaque

Les connaissances récentes en matière d'ischémie/reperfusion (I/R) font de ce syndrome un sujet d'importance majeure en transplantation. L'impact des événements délétères se produisant au cours de l'I/R sur le développement de la dysfonction précoce du greffon, du rejet aigu et du rejet chronique, est mieux connu à présent. De nouveaux marqueurs sont identifiés et constituent de nouvelles cibles thérapeutiques. Enfin, la nécessité d'étendre le recrutement des donneurs et d'utiliser des organes moins performants est un défi en matière de préservation. L'intégration des nouvelles connaissances sur l'I/R est particulièrement intéressante pour la transplantation cardiaque qui souffre toujours de durées d'ischémie réduites (6 h) et des conséquences immédiates de l'I/R sur la fonction cardiaque dès la reperfusion de l'organe.

### Mécanismes cellulaires et moléculaires au cours de l'ischémie/reperfusion

Les mécanismes cellulaires et moléculaires mis en jeu au cours de l'ischémie/reperfusion sont nombreux et complexes. L'altération de la fonction mitochondriale et la perte des métabolites énergétiques sont particulièrement importantes pour le cœur dont la fonction est étroitement corrélée au métabolisme énergétique. Les principaux mécanismes ainsi que quelques unes de leurs conséquences sont résumés dans le tableau 9.I. Il est important de considérer que ces processus sont fortement liés entre eux en matière de causes et de conséquences. Le déroulement de ces mécanismes va être également influencé par d'autres événements tels que la mort encéphalique, l'âge du donneur ou la préexistence d'une pathologie.

**Tableau 9.1 : Principales altérations au cours de l'ischémie/reperfusion (Hicks et coll., 2006 pour revue de ces mécanismes)**

Altérations	Conséquences
Manque d'oxygène et de substrats	Perte des composés à haute énergie
Perte de la fonction mitochondriale	Altération de la phosphorylation oxydative Transition de perméabilité mitochondriale Libération cytochrome C Apoptose
Altérations ioniques	Augmentation $Ca^{2+}$ , $Na^+$ , $H^+$
Altérations endothéliales	Altérations microvasculaires, perte d'oxyde nitrique (NO)
Stress oxydant	Induction des espèces réactives de l'oxygène, oxydation des protéines, activation du système immunitaire
Inflammation	Activation du système immunitaire, vasculopathie

Les travaux récents ont renforcé en particulier l'importance du rôle de la mitochondrie, des espèces réactives de l'oxygène, des altérations endothéliales et de l'inflammation dans la physiopathologie de l'I/R.

### **Perte de la fonction mitochondriale**

Les mitochondries jouent un rôle clé dans les altérations liées à l'I/R, en particulier dans les mécanismes d'apoptose et de nécrose. L'altération mitochondriale associée à l'accumulation de  $Ca^{2+}$  et à la production de radicaux libres déclenche l'apoptose par des mécanismes mettant en jeu une augmentation de la perméabilité des membranes (ouverture du pore de transition mitochondriale), la libération du cytochrome C et l'activation de la caspase 9 puis d'autres protéases apoptotiques (Jassem et coll., 2002 ; Lopez-Neblina et coll., 2005). Ces mécanismes sont régulés par la famille des protéines Bcl-2 localisées dans la membrane mitochondriale. Les niveaux de cytochrome C et d'ATP sont décisifs dans le passage entre la nécrose et l'apoptose (Kuznetsov et coll., 2004). L'apoptose est en effet un processus énergie-dépendant et une chute d'ATP trop importante va induire une mort cellulaire par nécrose plutôt que par apoptose. De même, la déplétion en cytochrome C inhibant la phosphorylation oxydative, le niveau de cytochrome C est potentiellement impliqué dans le développement de la nécrose plutôt que l'apoptose (Kuznetsov et coll., 2004). La manipulation de différentes réactions moléculaires participant aux voies apoptotiques est une étape clé pour améliorer la fonction et la survie des cellules et organes soumis à l'I/R.

## Altérations ioniques

Dans le myocarde, les ions jouent un rôle majeur puisqu'ils sont en particulier impliqués dans la contraction cardiaque. Dans le myocarde normal, les concentrations intracellulaires en  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{H}^+$  et  $\text{Ca}^{2+}$  sont déterminées par l'action intégrée de pompes, échangeurs et canaux présents dans toutes les membranes cellulaires. Lors de l'ischémie, un certain nombre d'événements tels que l'inactivation des ATPases par le manque d'énergie et l'activation de l'échangeur  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  par l'acidose vont induire l'accumulation intracellulaire de  $\text{Na}^+$  et de  $\text{Ca}^{2+}$ . La surcharge calcique, secondaire à la fois à l'augmentation du  $\text{Na}^+$  et à la non élimination du  $\text{Ca}^{2+}$  du cytoplasme, joue un rôle majeur dans les lésions liées à l'ischémie/reperfusion.

## Altérations endothéliales

Les altérations endothéliales provoquées par l'ischémie sont particulièrement étudiées au niveau du cœur en raison de leur impact sur les atteintes vasculaires impliquées fortement dans le devenir à long terme du greffon cardiaque. Elles sont liées à différents facteurs tels que l'hypothermie, l'augmentation du  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulaire ou la composition de certaines solutions de conservation du greffon (potassium élevé) (Yang et coll., 2004). Dans les conditions normales, l'endothélium induit la libération de composés régulant l'homéostasie de la paroi vasculaire, tels que l'oxyde nitrique (NO), la prostaglandine ( $\text{PGI}_2$ ) et l'EDHF (*Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor*). L'ischémie se traduit par une perte des propriétés régulatrices de l'endothélium notamment associées à des modifications (expression, activité) des protéines impliquées dans la synthèse du NO (NOS, *Nitric Oxide Synthases*) (Desrois et coll., 2005) et à une réduction de la production du NO. L'inhibition de la régulation de l'homéostasie vasculaire par l'endothélium entraîne la production de molécules d'adhésion pro-thrombotiques et pro-inflammatoires. Les radicaux libres produits notamment au moment de la reperfusion vont également détourner le NO libéré par l'endothélium vers la production de radicaux libres endommageant ce tissu.

## Stress oxydant

Le stress oxydant est majeur pendant la reperfusion mais il est initié dès la mort encéphalique et favorisé par l'ischémie. La production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) active toute une cascade d'événements délétères au niveau des cellules endothéliales et des myocytes incluant la peroxydation des lipides, le clivage des protéines et de l'ADN (Nelson et coll., 2005). L'importance des ERO a été renforcée par les études récentes montrant leur impact sur l'induction de l'immunité innée.



## Inflammation

Suite aux événements liés à la mort encéphalique, des molécules pro-inflammatoires (tableau 9.II) sont synthétisées pendant l'ischémie. Ces composants sont produits par les monocytes, les macrophages et les neutrophiles restant dans les vaisseaux après prélèvement de l'organe, ainsi que par les cellules endothéliales et le tissu myocardique (Oshima et coll., 2005). Les myocytes cardiaques eux-mêmes peuvent synthétiser des cytokines pendant l'ischémie (Meldrum, 1998). Ces molécules sont également produites au moment de la reperfusion par l'infiltration du greffon par les leucocytes et l'activation des neutrophiles et des macrophages.

**Tableau 9.II : Différentes classes de molécules pro-inflammatoires produites au niveau du greffon cardiaque**

Famille	Molécules
Cytokines	Interleukines (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-10, IL-12) TNF- $\alpha$ ( <i>Tumor Necrosis Factor-<math>\alpha</math></i> ) IFN $\gamma$ (interféron)
Chimiokines	MCP-1 ( <i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i> )
Molécules d'adhésion	ICAM-1 ( <i>InterCellular Adhesion Molecule-1</i> ) VECAM-1 ( <i>Vascular Cell Adhesion Molecule-1</i> ) PECAM-1 ( <i>Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule-1</i> ) Intégrines L-sélectine
Autres	iNOS (NO synthase inductible) Cyclooxygénase-2 CD40L MMP-9 C/EBPs

## Influence de la mort encéphalique

Les événements survenant lors de la mort encéphalique influencent fortement la réponse du cœur à l'ischémie/reperfusion (Ryan et coll., 2000 ; Pratschke et coll., 2004). L'organe subit une période transitoire d'ischémie chaude secondaire à l'hypotension et à la vasoconstriction associées à la mort encéphalique. En dépit d'une augmentation conséquente de la pression artérielle, le tissu devient ischémique en raison d'une vasoconstriction intense, d'une résistance vasculaire élevée et d'un flux sanguin significativement réduit localement. La mort encéphalique induit également la production de molécules pro-inflammatoires et d'espèces réactives de l'oxygène qui vont avoir une influence très importante sur le comportement du greffon avant et après la transplantation.

## Protection contre les altérations cellulaires et moléculaires liées à l'ischémie/reperfusion

Le développement de nouvelles stratégies visant à protéger le greffon cardiaque des lésions liées à l'I/R prend une importance croissante avec la meilleure connaissance des mécanismes et des conséquences du syndrome d'I/R et en raison du recours à des greffons marginaux.

### Mécanismes de protection endogènes

L'utilisation et la stimulation de mécanismes protecteurs existant déjà dans les cellules sont une approche intéressante qui est bien documentée pour le cœur. La faisabilité de l'utilisation de ces mécanismes en clinique reste encore à déterminer.

#### **Préconditionnement**

Le preconditionnement ischémique consiste en une courte période d'ischémie, suivie de reperfusion protégeant d'une ischémie/reperfusion sévère postérieure. Le phénomène a été initialement décrit pour le cœur (Murry et coll., 1986). Deux fenêtres de protection ont été décrites dans le cas du cœur ; un effet protecteur précoce appelé classiquement IP (*Ischemic Preconditioning*) et une phase retardée SWOP (*Second Window of Protection*) (Kuzuya et coll., 1993). L'effet IP est un phénomène transitoire durant les 2 heures qui suivent la procédure et disparaissant au-delà de 4 heures. L'effet retardé apparaît 12 heures après le stimulus IP, n'est pas aussi puissant et persiste jusqu'à 72 heures. Contrairement à l'effet précoce basé sur une modification transcriptionnelle, l'effet retardé nécessite une synthèse *de novo* des protéines. Les effecteurs finaux du preconditionnement ischémique sont probablement les canaux potassiques dépendant de l'ATP ( $K_{ATP}$ ) et plus spécifiquement ceux de la mitochondrie (Ambros et coll., 2007). L'effet protecteur du preconditionnement sur l'activation des canaux  $K_{ATP}$  (Ambros et coll., 2007) se traduit par :

- l'optimisation du métabolisme par la régulation de l'influx de potassium dans la mitochondrie ;
- la réduction de la surcharge calcique mitochondriale qui interfère avec la phosphorylation oxydative ;
- l'augmentation de la formation des ERO à un niveau sub-létal protégeant contre une augmentation successive à de plus fortes doses. Les connexines (en particulier Cx 43) et les protéines mitochondriales et du cytosquelette jouent également un rôle important.

L'effet de preconditionnement peut également être induit par l'hyperthermie ou autre stress (espèces réactives de l'oxygène ou NO par exemple) en mettant en jeu l'expression des protéines HSPs (*Heat Shock Proteins*)

(Joyeux-Faure et coll., 2003). En particulier, la famille des HSPs70, capable de réparer ou d'éliminer les protéines dénaturées, jouerait un rôle important dans le processus.

Les anesthésiques volatiles halogénés peuvent aussi induire un préconditionnement cardiaque qui passe également par l'activation des canaux mitochondriaux  $mK_{ATP}$ . L'induction du préconditionnement ne se fait cependant pas par la stimulation de récepteurs membranaires et de leurs médiateurs mais par l'interférence des anesthésiques volatiles avec la fonction mitochondriale et par une augmentation modérée de la production de ERO (Siracusano et coll., 2006).

L'effet du préconditionnement peut être induit par des agents pharmacologiques agissant sur les cibles mises en évidence. De tels composés se sont révélés protecteurs dans des modèles expérimentaux chez l'animal. Parmi les ouvreurs spécifiques des canaux mitochondriaux  $mK_{ATP}$ , le diazoxide a donné des résultats intéressants mais induit une hypotension car il n'est pas spécifique des cellules cardiaques. Un ouvreur spécifique des canaux  $mK_{ATP}$  cardiaques (BMS 180448) a donc été proposé (Cropper et coll., 2003a). Une autre voie possible est l'induction de ces mécanismes par transfert de gènes (gène codant pour HSP70 par exemple (Jayakumar et coll., 2001)). Cependant, la relevance du préconditionnement en clinique est incertaine. Pour être vraiment efficaces, ces substances devraient être administrées avant la déclaration de la mort ce que n'autoriserait pas la législation courante. D'autre part, le traitement toucherait tous les organes, il faudrait donc s'assurer que cela ne soit pas délétère pour d'autres organes dans le cas du prélèvement multi-organes. Enfin, il est possible aussi qu'il y ait déjà activation des canaux  $mK_{ATP}$  par la mort encéphalique. Une alternative serait de pourvoir les solutions cardioplégiques avec les agents pharmacologiques mimant l'effet du préconditionnement, méthode qui a donné de bons résultats expérimentaux.

### ***Postconditionnement***

De courtes périodes de reperfusion alternant avec la réocclusion appliquées au début de la reperfusion (postconditionnement) sont également capables de stimuler des mécanismes endogènes et d'avoir ainsi un effet protecteur lors de la reperfusion (Zhao et coll., 2003 ; Lauzier et coll., 2007). Le mécanisme démontré par différents travaux expérimentaux (Gateau-Roesch et coll., 2006 ; Ferrera et coll., 2007) met en jeu l'inhibition du pore de transition mitochondrial (mPTP) qui, comme il a été mentionné plus haut, joue un rôle important dans les altérations liées à l'I/R. Gomez et coll. (2008) ont plus spécifiquement montré que l'effet du postconditionnement impliquait la phosphorylation de la glycogène synthase kinase  $3\beta$  (GSK3 $\beta$ ). Le postconditionnement ischémique a été utilisé avec succès en clinique dans le cas de l'infarctus aigu du myocarde (Thibault et coll., 2008). Ces auteurs ont montré une réduction de la taille de l'infarctus et une amélioration de la

récupération fonctionnelle à long terme chez des patients bénéficiant d'un postconditionnement lors de la reperfusion après infarctus aigu du myocarde. Des inhibiteurs de l'ouverture du pore mPTP comme la ciclosporine A, mimant l'effet du postconditionnement, pourraient avoir un effet protecteur contre l'I/R. L'effet protecteur de la ciclosporine sur la taille de l'infarctus a ainsi été montré dans une étude pilote portant sur une cohorte de 58 patients (contrôles et recevant de la ciclosporine) soumis à une angioplastie percutanée après infarctus (Piot et coll., 2008). L'ensemble de ces travaux suggère que le postconditionnement ischémique ou l'utilisation d'agents pharmacologiques mimant ses effets pourraient être envisagés en transplantation cardiaque humaine pour limiter les lésions liées à l'I/R.

### **Autres mécanismes**

D'autres mécanismes protecteurs endogènes pourraient être activés par inhibition ou activation d'une voie ou encore par transfert de gène. L'intérêt de ces stratégies a pu être démontré dans des modèles expérimentaux. Une cible envisagée est le récepteur CXCR2 impliqué dans le recrutement des neutrophiles induit par le complément activé (Tarzami et coll., 2003). L'augmentation de la régulation de Bcl-2 par l'inhibition de la caspase 3 permet de limiter les lésions induites par l'I/R dans un modèle de transplantation hétérotopique chez le rat (Grunenfelder et coll., 2001). D'autres cibles ont été évoquées telles que l'activation de l'urocortine exprimée de manière endogène dans le myocarde pour protéger de l'apoptose (Scarabelli et coll., 2004). Ces voies doivent être toutefois manipulées avec précaution car cytoprotection et effet délétère peuvent être tous deux impliqués.

### **Solutions de préservation**

La conservation des greffons cardiaques repose actuellement sur la conservation au froid avec l'utilisation d'une solution spécialisée. Ces solutions de préservation varient beaucoup entre les centres de transplantation. Une étude auprès des centres de transplantation de l'UNOS (*United Network for Organ Sharing*) a montré que plus de 167 solutions différentes étaient utilisées pour la préservation cardiaque aux États-Unis (Demmy et coll., 1997). Certaines sont commercialisées telles que les solutions Bretschneider, Celsior, St Thomas, Plegisol ou UW. La solution Celsior, à faible concentration de  $K^+$ , a apporté de bons résultats dans les études expérimentales (Michel et coll., 2000 et 2002 ; Perrault et coll., 2001) et en clinique (Remadi et coll., 2002) et le bénéfice a notamment été attribué au caractère extracellulaire de la solution. Remadi et coll. (2002) ont réalisé une étude multicentrique prospective portant sur 70 receveurs d'une transplantation après préservation du greffon avec Celsior. Ils montrent de bons résultats sur la performance cardiaque et la mortalité dans la période post-transplantation ainsi que sur la survie à 5 ans. Cependant, certains travaux sont moins

favorables à la solution Celsior. Dans une étude expérimentale chez le lapin avec 24 heures d'ischémie, Kajihara et coll. (2006) montrent une moins bonne récupération fonctionnelle et plus d'arythmies post-transplantation avec la solution Celsior qu'avec la solution UW (Kajihara et coll., 2006). Un besoin plus élevé en vasodilatateurs et cathécolamines dans les cœurs préservés par Celsior dans les cinq jours post-opératoires ainsi que l'augmentation de l'expression de iNOS ont été montrés dans une étude clinique portant sur 41 patients (20 protégés avec la solution UW et 21 par la solution Celsior) (Wildhirt et coll., 2000). Les travaux récents ont toutefois bien établi le rôle délétère des fortes concentrations en potassium pour le cœur. L'hyperkaliémie altère l'endothélium vasculaire et pourrait ainsi avoir des conséquences à long terme, notamment sur le développement de la vasculopathie du greffon cardiaque. D'autre part, l'action dépolarisante du  $K^+$  résulte en une accumulation de  $Ca^{2+}$  intracellulaire et en une dépense énergétique par l'activation d'enzymes et pompes (Hoenicke et Damiano, 2001). Ceci est plutôt en faveur des solutions à concentration de  $K^+$  modérée (de l'ordre de 15 mM) mais il semble que même des concentrations de cet ordre pourraient être délétères pour le cœur (Desrois et coll., 1999). Des moyens pour arrêter le cœur dans un état hyperpolarisé ou polarisé (adénosine, ouvreurs des canaux  $K_{ATP}$ , bloqueurs des canaux  $Na^+$ ) ont donc été proposés pour remplacer le potassium (Hoenicke et Damiano, 2001 ; Diodato et coll., 2005). Malgré les progrès apportés aux solutions de préservation, le temps de conservation maximum accepté en clinique reste de 6 heures pour le cœur. Les travaux expérimentaux montrent que l'on peut certainement atteindre des périodes d'arrêt plus longues. Toutefois, il reste encore à améliorer la composition de ces solutions et un certain nombre de modifications (Bernard et coll., 1999 ; Michel et coll., 2000) ou additifs (voir ci-dessous) ont été proposés.

### **Additifs pendant la préservation**

Le tableau 9.III fait le point des propositions récentes pour le greffon cardiaque en matière de composés protecteurs contre le dommage ischémie/reperfusion.

Ces agents ont pour l'instant été utilisés en expérimentation animale, souvent uniquement chez le rongeur et demandent à être validés chez le gros animal puis chez l'homme. Les composés déjà utilisés chez l'homme pour d'autres applications tels que la L-arginine sont potentiellement transposables plus rapidement. Il est intéressant de combiner plusieurs de ces agents protecteurs. Il semble en particulier bénéfique d'associer anti-oxydants et donneurs de NO en raison de l'importance du stress oxydant et des altérations endothéliales. L'utilisation de composés susceptibles d'agir sur l'inflammation tels que ceux inhibant les MAPK (*Mitogen Activated Protein*

*Kinase*) est prometteuse mais demande de mieux connaître les mécanismes mis en jeux.

Des composés réduisant l'immunogénicité du greffon avant la transplantation seraient également intéressants à développer pour diminuer les altérations post-transplantation. Les techniques de métabolomique, protéomique et génomique appliquées en préservation d'organes constituent un axe prometteur pour mettre en évidence de nouveaux marqueurs du dommage lié à l'I/R et donc pour développer de nouvelles cibles thérapeutiques.

**Tableau 9.III : Cibles thérapeutiques et agents pharmacologiques pour la préservation cardiaque issus de la littérature récente**

Cibles thérapeutiques	Composés pharmacologiques	Références
Précurseur métabolique	Fructose 1,6-diphosphate	Chien et coll., 2000
Inhibiteur métabolique	2,3-butanedione monoxime	Warnecke et coll., 2002
$mK_{ATP}$	Diazoxide BMS180148	Cropper et coll., 2003a
Échangeur $Na^+/H^+$	Cariporide	Cropper et coll., 2003b Scheule et coll., 2003
Donneurs de NO	FK409 Nitroglycérine L-arginine	Mohara et coll., 2000 Baxter et coll., 2001 Desrois et coll., 2008
Cibles multiples	Statines EPO	Zhao et coll., 2006 Fiordaliso et coll., 2005
P38 MAP kinase	FR167653	Koike et coll., 2007
PI3K/Akt	IGF1	Davani et coll., 2003
Antioxydants	Lazaroid (U4389G) Edaravoneet MCI-186	Ryan et coll., 2000 Kotani et coll., 2007
Cryopréservation	Protéines de poissons des mers froides	Amir et coll., 2005
Cox2	FK3311	Oshima et coll., 2005
Arrêt hyperpolarisé	Pinacidil	Hoenicke et Damiano, 2001 Hoenicke et coll., 2000
CO	CORM-3	Musameh et coll., 2007

CO : monoxyde de carbone ; EPO : érythropoïétine ; IGF1 : *Insulin like Growth Factor 1* ; NO : oxyde nitrique

## Méthodes de perfusion et de stockage

Parallèlement à la problématique de la composition des solutions de préservation et de l'utilisation d'agents pharmacologiques avant, pendant ou après l'ischémie, les conditions de perfusion et de stockage du greffon cardiaque sont des éléments importants explorés et reconsidérés en particulier dans le contexte des greffons à critères élargis.

### ***Température***

La température est un sujet de controverse. Une température basse a des bénéfices certains en matière de préservation des réserves énergétiques, élément critique pour la conservation du muscle cardiaque. Elle présente par ailleurs des inconvénients liés à l'œdème cellulaire (inhibition Na/K-ATPase), à l'augmentation de  $Ca^{2+}$  et à l'altération des membranes cellulaires. Ces effets peuvent toutefois être contrés par la composition de la solution.

### ***Méthodes de perfusion***

La perfusion continue à froid présente différents avantages en permettant une supplémentation continue en substrats, le lavage des produits toxiques et également la réalisation d'analyses dans les effluats pour l'évaluation du greffon. Cette technique a été utilisée pour le rein mais a rencontré un succès limité pour le cœur en raison de la complexité des dispositifs. Les études expérimentales sur modèles animaux ont cependant donné de bons résultats (Rao et coll., 2001 ; Fitton et coll., 2005). Leur mise en œuvre demande en particulier un contrôle soigneux du débit de perfusion pour éviter les problèmes d'œdème. Pour pallier la lourdeur de ces dispositifs, des alternatives ont été proposées telles que l'instauration d'une perfusion courte à la fin de la période de préservation (Nameki et coll., 2006) permettant notamment de laver les produits toxiques accumulés et éventuellement de régénérer les composés énergétiques (Hasegawa et coll., 2000). Une autre méthode proposée consiste à remplir le cœur avec la solution de conservation froide et à l'immerger dans les perfluorocarbones oxygénés (mélange : 95 %  $O_2$ , 5 %  $CO_2$ ) délivrés de façon continue pendant toute la durée de stockage (Kamoda et coll., 2007). La persufflation des artères coronaires avec de l'oxygène gazeux a également été l'objet d'études expérimentales avec de bons résultats sur la préservation des myocytes et de l'endothélium (Kuhn-Regnier et coll., 2004).

### **Préservation des greffons marginaux**

La pénurie de greffons amène à considérer des greffons de donneurs plus âgés voire à utiliser des cœurs arrêtés. Ces greffons demandent des techniques de préservation optimales. La perfusion continue est particulièrement intéressante pour ces greffons car elle offre la possibilité de restaurer la fonction de l'organe. Des études expérimentales chez l'animal ont montré qu'il était possible de réanimer des cœurs arrêtés (Hirota et coll., 2006 ; Osaki et coll., 2006). Cependant, l'utilisation de ces cœurs nécessite l'identification de marqueurs pour évaluer l'état des greffons avant la transplantation.

## Marqueurs de l'état du greffon

La mesure dans le sérum du donneur des niveaux de troponine T (cTnT) et de procalcitonine (PCT) a été proposée (Potapov et coll., 2003). Le cTnT est relié directement à un dommage myocardique tandis que la procalcitonine est un marqueur de la réponse systémique inflammatoire. Cependant, ces marqueurs sont mesurés au moment du prélèvement, avant la période de conservation et ne tiennent pas compte des altérations liées à la période de préservation. Des méthodes non invasives, réalisables rapidement juste avant la transplantation, fondées notamment sur l'imagerie de diffusion, évaluées chez l'animal (Collins et coll., 2007), ou la spectrométrie de résonance magnétique du P-31 dont l'évaluation a été faite chez l'homme (Caus et coll., 2005) ont été proposées. D'autres auteurs ont proposé des systèmes de perfusion permettant d'évaluer la fonction de l'organe avant la transplantation (Hirota et coll., 2006 ; Kotani et coll., 2007) dans des études expérimentales chez l'animal. Ces dispositifs seraient particulièrement avantageux dans le cadre de la réanimation des cœurs arrêtés.

## Perspectives en préservation cardiaque

De nouveaux concepts apparaissent en matière de préservation cardiaque comme pour les autres organes. À côté de la préservation même de la fonction du greffon, l'immunomodulation de l'organe pourrait permettre de diminuer la réponse immunitaire ou même induire la tolérance. L'utilisation de méthodes telles que la perfusion continue est un autre moyen permettant non seulement de rétablir la fonction de l'organe mais de faire réellement de la réparation de tissu avec perfusion d'hormones de croissance par exemple. Le transfert de gènes constitue également une voie envisagée pour induire la surexpression de gènes impliqués dans des mécanismes de protection endogènes. Dans un modèle de transplantation cardiaque chez le rat (Huang et coll., 2005), le transfert du gène *Bcl-xL* permet de prolonger le temps d'ischémie. Jayakumar et coll. (2001) ont également montré une protection de la fonction mitochondriale par transfection dans le cœur de rat du gène codant pour la protéine de stress HSP70.

## Conséquences post-transplantation du syndrome d'ischémie/reperfusion

Le syndrome d'ischémie/reperfusion a un impact significatif sur le développement des événements délétères post-transplantation : défaillance précoce du greffon, rejet aigu, rejet chronique et a donc un rôle important dans le succès de la greffe.



## **Immunité innée**

Des travaux récents ont mis en évidence l'activation du système immunitaire inné par l'I/R. Les espèces réactives de l'oxygène jouent un rôle majeur dans cette activation. L'apparition de protéines oxydées non natives induit la production de protéines (HSPs par exemple) qui vont activer les récepteurs TLR (*Toll Like Receptors*) des cellules du système immunitaire inné et en particulier des cellules dendritiques. Il en résulte une maturation de ces cellules représentant le lien vers l'immunité adaptative (rejet aigu). Ce mécanisme va également jouer un rôle dans le développement de l'alloathérosclérose (composant du rejet chronique) avec l'activation des récepteurs TLRs des cellules vasculaires (Land, 2005).

## **Défaillance primaire du greffon**

La défaillance primaire du greffon cardiaque (PGF, *Primary Graft Failure*) après transplantation est la cause principale de mortalité précoce et est responsable de 27 % des décès se produisant durant les 30 premiers jours post-transplantation (Taylor et coll., 2004). L'incidence de défaillance primaire du greffon cardiaque varie suivant les centres en fonction des critères de définition de la PGF et des critères d'acceptation des greffons, mais la fréquence peut atteindre 25 % (Marasco et coll., 2005). Le PGF est généralement défini par la nécessité de recourir à de hautes doses d'inotrope et/ou à un support mécanique immédiatement après la transplantation. L'ischémie/reperfusion joue un rôle important dans cette complication et le temps d'ischémie et l'âge du donneur sont des facteurs significatifs. Marasco et coll. (2005) ont évalué à 43 % l'augmentation du risque de développer une défaillance pour chaque heure supplémentaire au-delà de 4 heures d'ischémie. Les cœurs de donneurs âgés sont de plus en plus souvent acceptés avec un risque potentiel d'athérosclérose locale et de défaillance primitive du greffon (Grauhan et coll., 2007).

## **Marqueurs**

Les cœurs marginaux ne sont souvent pas utilisés par peur de défaillance du greffon d'où l'importance de développer des marqueurs permettant d'évaluer la qualité de l'organe. L'enjeu est de trouver des marqueurs qui avant la transplantation pourraient être révélateurs de la survenue de la dysfonction du greffon après la transplantation. Il a été montré que l'expression de HIF-1 alpha (*Hypoxia Inducible Factor*) était significativement corrélée à la défaillance primitive du greffon (Aharinejad, 2007). La détection des composés énergétiques par mesure du phosphore-31 en spectrométrie de résonance magnétique juste avant la transplantation pourrait prédire la défaillance primaire du greffon (Caus et coll., 2005).

### **Rôle de l'oxygénation membranaire extra-corporelle (ECMO)**

Parmi les traitements de la dysfonction précoce (hémodilution, IABP (*Intra Aortic Balloon Pump*), oxyde nitrique, assistance ventriculaire), l'oxygénation extracorporelle donne de bons résultats, comme le montre une revue rétrospective portant sur 204 transplantés cardiaques (Chou et coll., 2006). Cette méthode a l'avantage d'être facilement utilisable et moins coûteuse, comparée notamment à l'assistance ventriculaire.

### **Rejet aigu**

L'ischémie/reperfusion contribue directement au développement du rejet aigu puisqu'elle est capable d'activer la réponse immunitaire par l'effet des espèces réactives de l'oxygène et de l'oxyde nitrique notamment, sur l'immunité innée.

### **Lésions chroniques**

La dysfonction de la cellule endothéliale est centrale dans la pathogenèse de l'ischémie/reperfusion et dans l'induction de l'athérosclérose du greffon. Les lésions chroniques résultent de l'interaction de facteurs immunologiques avec les dommages liés à l'ischémie. Les radicaux libres produits par l'I/R jouent un rôle important dans l'étiopathogenèse des lésions chroniques par leur effet sur l'induction de l'immunité innée, sur l'endothélium et sur la peroxydation des lipides membranaires (Weis et Cooke, 2003 ; Iwanaga et coll., 2007 ; Miller, 2007). La mort encéphalique avec la libération des cathécolamines endogènes a également un rôle important.

Indépendamment des dommages propres à l'ischémie/reperfusion, les conséquences post-transplantation sont également liées au temps réduit de l'ischémie ne permettant pas de réaliser un typage du tissu. L'amélioration des techniques de préservation et l'allongement du temps d'ischémie permettraient d'améliorer la compatibilité HLA entre donneur et receveur et de diminuer de ce fait la réponse immunitaire.

### **Régénération post-ischémique, inflammation**

L'importance des processus de régénération pour la performance à long terme du greffon est maintenant reconnue, or il existe un équilibre entre les phénomènes d'inflammation et de régénération (Bingaman et coll., 2000). Les cytokines jouant un rôle dans l'inflammation sont aussi impliquées dans la régénération (Dotson et coll., 2004). De même, la mobilisation des cellules souches est impliquée dans la régénération. Ces interactions doivent être prises en compte dans le traitement de l'ischémie/reperfusion.

**En conclusion**, les observations issues de la littérature récente renforcent l'importance de l'ischémie/reperfusion en transplantation cardiaque mais montrent aussi sa complexité et mettent en lumière de nouvelles voies et mécanismes à étudier ainsi que de nouvelles stratégies à développer. La reconnaissance de l'impact de l'ischémie/reperfusion sur la dysfonction précoce et la vasculopathie du greffon cardiaque met la préservation au centre de la transplantation cardiaque. De nouveaux concepts susceptibles de faire progresser les méthodes de préservation des greffons cardiaques, tels que l'importance de la sauvegarde des cellules endothéliales à côté de celle des myocytes cardiaques, ont émergé. Les travaux expérimentaux suggèrent que la période de préservation des greffons cardiaques pourrait être étendue au-delà de 6 h avec l'amélioration des solutions utilisées en perfusion statique. Cependant, la perfusion continue normothermique ou hypothermique, déjà utilisée pour le rein, représente maintenant pour le cœur un moyen envisagé pour allonger la période de préservation. Elle pourrait également être plus adaptée pour la préservation des greffons à critères élargis. Les mécanismes de préconditionnement et postconditionnement sont bien documentés dans le cas du cœur et constituent une ouverture intéressante pour la préservation de cet organe. Enfin, comme pour les autres organes les nouveaux développements mettant en œuvre le transfert de gènes, la réduction de l'immunogénicité du greffon et la réparation tissulaire sont à explorer plus avant.

## BIBLIOGRAPHIE

AHARINEJAD S, SCHÄFER R, KRENN K, ZUCKERMANN A, SCHNEIDER B, et coll. Donor myocardial HIF-1 alpha is an independent predictor of cardiac allograft dysfunction: a 7-year prospective exploratory study. *Am J Transplant* 2007, **7** : 2012-2019

AMBROS JT, HERRERO-FRESNEDA I, BORAU OG, BOIRA JM. Ischemic preconditioning in solid organ transplantation: from experimental to clinics. *Transpl Int* 2007, **20** : 219-229

AMIR G, RUBINSKY B, BASHEER SY, HOROWITZ L, JONATHAN L, et coll. Improved viability and reduced apoptosis in sub-zero 21-hour preservation of transplanted rat hearts using anti-freeze proteins. *J Heart Lung Transplant* 2005, **24** : 1915-1929

BAXTER K, HOWDEN BO, JABLONSKI P. Heart preservation with Celsior solution improved by the addition of nitroglycerine. *Transplantation* 2001, **71** : 1380-1384

BERNARD M, CAUS T, SCIACKY M, LAN C, COZZONE PJ. Optimized cardiac graft preservation: a comparative experimental study using P-31 magnetic resonance spectroscopy and biochemical analyses. *J Heart Lung Transplant* 1999, **18** : 572-581

BINGAMAN AW, HA J, WAITZE SY, DHURAM MM, CHO HR. Vigorous allograft rejection in the absence of danger. *J Immunol* 2000, **164** : 3065-3071

CAUS T, KOBER F, MOULY-BANDINI A, RIBERI A, METRAS DR, et coll. 31P MRS of heart grafts provides metabolic markers of early dysfunction. *Eur J Cardiothorac Surg* 2005, **28** : 576-580

CHIEN S, ZHANG F, NIU W, EHRINGER W, CHIANG B, et coll. Fructose-1,6-diphosphate and a glucose-free solution enhances functional recovery in hypothermic heart preservation. *J Heart Lung Transplant* 2000, **19** : 277-285

CHOU NK, CHI NH, KO WJ, YU HY, HUANG SC, et coll. Extracorporeal membrane oxygenation for perioperative cardiac allograft failure. *Asaio J* 2006, **52** : 100-103

COLLINS MJ, OZEKI T, ZHUO J, GU J, GULLAPALLI R, et coll. Use of diffusion tensor imaging to predict myocardial viability after warm global ischemia: possible avenue for use of non-beating donor hearts. *J Heart Lung Transplant* 2007, **26** : 376-383

CROPPER JR, HICKS M, RYAN JB, MACDONALD PS. Enhanced cardioprotection of the rat heart during hypothermic storage with combined Na<sup>+</sup> - H<sup>+</sup> exchange inhibition and ATP-dependent potassium channel activation. *J Heart Lung Transplant* 2003a, **22** : 1245-1253

CROPPER JR, HICKS M, RYAN JB, MACDONALD PS. Cardioprotection by cariporide after prolonged hypothermic storage of the isolated working rat heart. *J Heart Lung Transplant* 2003b, **22** : 929-936

DAVANI EY, BRUMME Z, SINGHERA GK, COTE HC, HARRIGAN PR, et coll. Insulin-like growth factor-1 protects ischemic murine myocardium from ischemia/reperfusion associated injury. *Crit Care* 2003, **7** : R176-R183

DEMMY TL, BIDDLE JS, BENNETT LE, WALLS JT, SCHMALTZ RA, et coll. Organ preservation solutions in heart transplantation--patterns of usage and related survival. *Transplantation* 1997, **63** : 262-269

DESROIS M, SCIACKY M, LAN C, COZZONE PJ, BERNARD M. Metabolic and functional effects of low-potassium cardioplegic solutions for long-term heart preservation. *Magma* 1999, **8** : 77-82

DESROIS M, CAUS T, BELLES PM, DALMASSO C, LAN C, et coll. Nitric oxide pathway after long-term cold storage and reperfusion in a heterotopic rat heart transplantation model. *Transplant Proc* 2005, **37** : 4553-4555

DESROIS M, CAUS T, BELLES PM, DALMASSO C, LAN C, et coll. Limitation of myocardial and endothelial injury of the rat heart graft after preservation with Centre de Résonance Magnétique Biologique et Médicale (CRMB) solution. *Transpl Int* 2008, **21** : 276-283

DIODATO MD JR, SHAH NR, PRASAD SM, RACEN EL, MIZUTANI S, et coll. Progress towards a more physiologic approach to donor heart preservation: the advantages of hyperpolarized arrest. *J Heart Lung Transplant* 2005, **24** : 1362-1368

DOTSON V, HORAK K, ALWARDT C, LARSON DI. Relationship of aging and cardiac IL10. *J Extra Corpor Technol* 2004, **36** : 197-201

FERRERA R, BOPASSA JC, ANGOULVANT D, OVIZE M. Post-conditioning protects from cardioplegia and cold ischemia via inhibition of mitochondrial permeability transition pore. *J Heart Lung Transplantation* 2007, **6** : 604-609

FIORDALISO F, CHIMENTI S, STASZEWSKY L, BAI A, CARLO E, et coll. A nonerythropoietic derivative of erythropoietin protects the myocardium from ischemia-reperfusion injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005, **102** : 2046-2051

FITTON TP, BARREIRO CJ, BONDE PN, WEI C, GAGE F, et coll. Attenuation of DNA damage in canine hearts preserved by continuous hypothermic perfusion. *Ann Thorac Surg* 2005, **80** : 1812-1820

GATEAU-ROESCH O, ARGAUD L, OVIZE M. Mitochondrial permeability transition pore and post-conditioning. *Cardiovasc Res* 2006, **70** : 264-273

GOMEZ L, PAILLARD M, THIBAUT H, DERUMEAUX G, OVIZE M. Inhibition of GSK3beta by postconditioning is required to prevent opening of the mitochondrial permeability transition pore during reperfusion. *Circulation* 2008, **117** : 2761-2768. Epub 2008 May 19

GRAUHAN O, SINIAWSKI H, DANDEL M, LEHMKUHL H, KNOSALLA C, et coll. Coronary atherosclerosis of the donor heart--impact on early graft failure. *Eur J Cardiothorac Surg* 2007, **32** : 634-638

GRUNENFELDER J, MINIATI DN, MURATA S, FALK V, HOYT EG, et coll. Upregulation of Bcl-2 through caspase-3 inhibition ameliorates ischemia/reperfusion injury in rat cardiac allografts. *Circulation* 2001, **104** : I202-I206

HASEGAWA Y, SUZUKI M, OHTAKI A, TAKAHASHI T, SATO Y, et coll. The effect of short-term coronary perfusion using oxygenated diluted blood following cold storage for long-term heart preservation. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 2000, **41** : 363-370

HICKS M, HING A, GAO L, RYAN J, MACDONALD PS. Organ preservation. *Methods Mol Biol* 2006, **333** : 331-374

HIROTA M, ISHINO K, FUKUMASU I, YOSHIDA K, MOHRI S, et coll. Prediction of functional recovery of 60-minute warm ischemic hearts from asphyxiated canine non-heart-beating donors. *J Heart Lung Transplant* 2006, **25** : 339-344

HOENICKE EM, DAMIANO RJ JR. Superior 12-hour heart preservation with pinacidil hyperpolarizing solution compared to University of Wisconsin solution. *J Heart Lung Transplant* 2001, **20** : 1106-1114

HOENICKE EM, PETERSEIM DS, DUCKO CT, SUN X, DAMIANO RJ. Donor heart preservation with the potassium channel opener pinacidil: comparison with University of Wisconsin and St. Thomas' solution. *J Heart Lung Transplant* 2000, **19** : 286-297

HUANG J, NAKAMURA K, ITO Y, UZUKA T, MORIKAWA M, et coll. Bcl-xL gene transfer inhibits Bax translocation and prolongs cardiac cold preservation time in rats. *Circulation* 2005, **112** : 76-83

IWANAGA K, HASEGAWA T, HULTQUIST DE, HARADA H, YOSHIKAWA Y, et coll. Riboflavin-mediated reduction of oxidant injury, rejection and vasculopathy after cardiac allotransplantation. *Transplantation* 2007, **83** : 747-753

JASSEM W, FUGGLE SV, RELA M, KOO DD, HEATON ND. The role of mitochondria in ischemia/reperfusion injury. *Transplantation* 2002, **73** : 493-499

JAYAKUMAR J, SUZUKI K, SAMMUT IA, SMOLENSKI RT, KHAN M, et coll. Heat shock protein 70 gene transfection protects mitochondrial and ventricular function against ischemia-reperfusion injury. *Circulation* 2001, **104** : I303-I307

JOYEUX-FAURE M, ARNAUD C, GODIN-RIBUOT D, RIBUOT C. Heat stress preconditioning and delayed myocardial protection: what is new? *Cardiovasc Res* 2003, **60** : 469-477

KAJIHARA N, MORITA S, TANOUE Y, BOKU N, ETO M, et coll. The UW solution has greater potential for longer preservation periods than the Celsior solution: comparative study for ventricular and coronary endothelial function after 24-h heart preservation. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006, **29** : 784-789

KAMODA Y, FUJINO Y, TANIOKA Y, SAKAI T, KURODA Y. Ischemically damaged heart after preservation by the cavitory two-layer method as a possible donor in rat heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2007, **26** : 1320-1325

KOIKE N, TAKEYOSHI I, OHKI S, TOKUMINE M, MORISHITA Y. The comparison of mitogen-activated protein kinases that become activated within the left ventricular and right atrial tissues following heart transplantation in canine model. *J Invest Surg* 2007, **20** : 105-111

KOTANI Y, ISHINO K, OSAKI S, HONJO O, SUEZAWA T, et coll. Efficacy of MCI-186, a free-radical scavenger and antioxidant, for resuscitation of nonbeating donor hearts. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007, **133** : 1626-1632

KUHN-REGNIER F, BLOCH W, TSIMPOULIS I, REISMANN M, DAGKTEKIN O, et coll. Coronary oxygen persufflation for heart preservation in pigs: analyses of endothelium and myocytes. *Transplantation* 2004, **77** : 28-35

KUZNETSOV AV, SCHNEEBERGER S, SEILER R, BRANDACHER G, MARK W, et coll. Mitochondrial defects and heterogeneous cytochrome c release after cardiac cold ischemia and reperfusion. *Am J Physiol* 2004, **286** : H1633-H1641

KUZUYA T, HOSHIDA S, YAMASHITA N, FUJI H, OE H, et coll. Delayed effects of sublethal ischemia on the acquisition of tolerance to ischemia. *Circ Res* 1993, **72** : 1293-1299

LAND WG. The role of postischemic reperfusion injury and other nonantigen-dependent inflammatory pathways in transplantation. *Transplantation* 2005, **79** : 505-514

LAUZIER B, SICARD P, BOUCHOT O, DELEMASURE S, MENETRIER F, et coll. After four hours of cold ischemia and cardioplegic protocol, the heart can still be rescued with postconditioning. *Transplantation* 2007, **84** : 1474-1482

LOPEZ-NEBLINA F, TOLEDO AH, TOLEDO-PEREYRA LH. Molecular biology of apoptosis in ischemia and reperfusion. *J Invest Surg* 2005, **18** : 335-350

MARASCO SF, ESMORE DS, NEGRI J, ROWLAND M, NEWCOMB A, et coll. Early institution of mechanical support improves outcomes in primary cardiac allograft failure. *J Heart Lung Transplant* 2005, **24** : 2037-2042

MELDRUM DR. Tumor necrosis factor in the heart. *Am J Physiol* 1998, **274** : R577-R595

MICHEL P, HADOUR G, RODRIGUEZ C, CHIARI P, FERRERA R. Evaluation of a new preservative solution for cardiac graft during hypothermia. *J Heart Lung Transplant* 2000, **19** : 1089-1097

MICHEL P, VIAL R, RODRIGUEZ C, FERRERA R. A comparative study of the most widely used solutions for cardiac graft preservation during hypothermia. *J Heart Lung Transplant* 2002, **21** : 1030-1039

MILLER LW. Coronary microvasculopathy after heart transplantation: a new marker to guide future trials. *Circulation* 2007, **116** : 1224-1225

MOHARA J, OSHIMA K, TSUTSUMI H, TAKEYOSHI I, MATSUMOTO K, et coll. FK409 ameliorates ischemia-reperfusion injury in heart transplantation following 12-hour cold preservation. *J Heart Lung Transplant* 2000, **19** : 694-700

MURRY CE, JENNINGS RB, REIMER KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986, **74** : 1124-1136

MUSAMEH MD, GREEN CJ, MANN BE, FULLER BJ, MOTTERLINI R. Improved myocardial function after cold storage with preservation solution supplemented with a carbon monoxide-releasing molecule (CORM-3). *J Heart Lung Transplant* 2007, **26** : 1192-1198

NAMEKI T, TAKEYOSHI I, OSHIMA K, KOBAYASHI K, SATO H, et coll. A comparative study of long-term heart preservation using 12-h continuous coronary perfusion versus 1-h coronary perfusion following 11-h simple immersion. *J Surg Res* 2006, **135** : 107-112

NELSON SK, BOSE S, RIZEQ M, MC CORD JM. Oxidative stress in organ preservation: a multifaceted approach to cardioplegia. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 2005, **59** : 149-157

OSAKI S, ISHINO K, KOTANI Y, HONJO O, SUEZAWA T, et coll. Resuscitation of non-beating donor hearts using continuous myocardial perfusion: the importance of controlled initial reperfusion. *Ann Thorac Surg* 2006, **81** : 2167-2171

OSHIMA K, TAKEYOSHI I, MOHARA J, TSUTSUMI H, ISHIKAWA S, et coll. Long-term preservation using a new apparatus combined with suppression of pro-inflammatory cytokines improves donor heart function after transplantation in a canine model. *J Heart Lung Transplant* 2005, **24** : 602-608

PERRAULT LP, NICKNER C, DESJARDINS N, DUMONT E, THAI P, et coll. Improved preservation of coronary endothelial function with Celsior compared with blood and crystalloid solutions in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2001, **20** : 549-558

PIOT C, CROISILLE P, STAAT P, THIBAUT H, RIOUFOL G, et coll. Effect of cyclosporine on reperfusion injury in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2008, **359** : 473-481

POTAPOV EV, WAGNER FD, LOEBE M, IVANITSKAIA EA, MÜLLER C, et coll. Elevated donor cardiac troponin T and procalcitonin indicate two independent mechanisms of early graft failure after heart transplantation. *Int J Cardiol* 2003, **92** : 163-167

PRATSCHKE J, TULLIUS SG, NEUHAUS P. Brain death associated ischemia/reperfusion injury. *Ann Transplant* 2004, **9** : 78-80

RAO V, FEINDEL CM, COHEN G, BORGER MA, ROSS HJ, et coll. Effects of metabolic stimulation on cardiac allograft recovery. *Ann Thorac Surg* 2001, **71** : 219-225

REMADI JP, BARON O, ROUSSEL JC, AL HABASH O, TREILHAUD M, et coll. Myocardial preservation using Celsior solution in cardiac transplantation: early results and 5-year follow-up of a multicenter prospective study of 70 cardiac transplantations. *Ann Thorac Surg* 2002, **73** : 1495-1499

RYAN JB, WILSON MK, HICKS M, NICHOLSON A, KESTEVEN SH, et coll. A brain dead donor model of porcine orthotopic cardiac transplantation for assessment of cardiac allograft preservation. *Heart Lung Circ* 2000, **9** : 78-81

SCARABELLI TM, PASINI E, FERRARI G, FERRARI M, STEPHANOU A, et coll. Warm blood cardioplegic arrest induces mitochondrial-mediated cardiomyocyte apoptosis associated with increased urocortin expression in viable cells. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004, **128** : 364-371

SCHEULE AM, JOST D, BEIERLEIN W, ZURAKOWSKI D, HAAS J, et coll. Sodium-hydrogen inhibitor cariporide (HOE 642) improves in situ protection of hearts from non-heart-beating donors. *J Heart Lung Transplant* 2003, **22** : 1335-1342

SIRACUSANO L, GIRASOLE V, ALVARO S, CHIAVARINO ND. Myocardial preconditioning and cardioprotection by volatile anaesthetics. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* 2006, **7** : 86-95

TARZAMI ST, MIAO W, MANI K, LOPEZ L, FACTOR SM, et coll. Opposing effects mediated by the chemokine receptor CXCR2 on myocardial ischemia-reperfusion injury: recruitment of potentially damaging neutrophils and direct myocardial protection. *Circulation* 2003, **108** : 2387-2392

TAYLOR DO, EDWARDS LB, BOUCEK MM, TRULOCK EP, KECK BM, et coll. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-first official adult heart transplant report-2004. *J Heart Lung Transplant* 2004, **23** : 796-803

THIBAUT H, PIOT C, STAAT P, BONTEMPS L, SPORTOUCH C, et coll. Long term benefit of post-conditionning. *Circulation* 2008, **117** : 1037-1044

WARNECKE G, SCHULZE B, HAGL C, HAVERICH A, KLIMA U. Improved right heart function after myocardial preservation with 2,3-butanedione 2-monoxime in a porcine model of allogenic heart transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002, **123** : 81-88

WEIS M, COOKE JP. Cardiac allograft vasculopathy and dysregulation of the NO synthase pathway *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003, **23** : 567-575

WILDHIRT SM, WEIS M, SCHULZE C, CONRAD N, RIEDER G, et coll. Effects of Celsior and University of Wisconsin preservation solutions on hemodynamics and endothelial function after cardiac transplantation in humans: a single-center, prospective, randomized trial. *Transpl Int* 2000, **13** (suppl 1) : S203-S211

YANG Q, ZHANG RZ, YIM AP, HE GW. Histidine-tryptophan-ketoglutarate solution maximally preserves endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated function during heart preservation: comparison with University of Wisconsin solution. *J Heart Lung Transplant* 2004, **23** : 352-359



ZHAO JL, YANG YJ, CUI CJ, YOU SJ, GAO RL. Pretreatment with simvastatin reduces myocardial no-reflow by opening mitochondrial K(ATP) channel. *Br J Pharmacol* 2006, **149** : 243-249

ZHAO ZQ, CORVERA JS, HALKOS ME, KERENDI F, WANG NP, et coll. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003, **285** : H579-H588

# 10

## Syndrome d'ischémie/reperfusion et préservation en transplantation pulmonaire

La transplantation pulmonaire s'est développée ces quinze dernières années avec une amélioration en termes de survie des patients à 1 an et à 5 ans et représente actuellement l'indication de choix dans le cas des pathologies pulmonaires terminales. Cependant, le nombre de greffes pulmonaires réalisées et les résultats post-transplantation restent encore inférieurs à ceux de la transplantation des autres organes solides en raison d'un certain nombre de facteurs limitants. L'état des greffons disponibles et leur sensibilité à l'ischémie/reperfusion constituent deux points importants. Seuls 10 à 30 % des poumons sont jugés aptes à la transplantation et le temps d'ischémie accepté reste limité à 6-8 heures. Les altérations cellulaires et moléculaires associées à l'ischémie/reperfusion (I/R) ont un impact important sur la mortalité et la morbidité post-transplantation précoce et tardive et sont considérées comme une limitation majeure au succès de la transplantation pulmonaire.

### Mécanismes cellulaires et moléculaires au cours de l'ischémie/reperfusion

On retrouve les mécanismes décrits pour les autres organes avec un rôle particulièrement important du stress oxydant et de l'inflammation.

#### Stress oxydant

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont générées dans la plupart des cellules du parenchyme pulmonaire, notamment les cellules endothéliales, les cellules épithéliales alvéolaires (pneumocytes de type I et II), les cellules de Clara, les cellules épithéliales ciliées ainsi que les macrophages alvéolaires (de Perrot et coll., 2003). Une caractéristique importante propre au poumon est qu'il reste de l'oxygène dans les alvéoles pulmonaires durant la période

d'ischémie. De ce fait, un maintien du métabolisme en aérobie persiste pendant un certain temps mais participe en revanche à un stress oxydatif dont l'endothélium est une source importante (Fisher et coll., 2003). D'autres cellules telles que les macrophages et les neutrophiles marginaux peuvent également contribuer à ce stress oxydant (Fiser et coll., 2001a).

## Inflammation

Les principaux facteurs impliqués dans l'inflammation associée à l'ischémie/reperfusion pulmonaire sont résumés dans le tableau 10.I.

**Tableau 10.I : Molécules et cellules impliquées dans les événements inflammatoires au cours de l'I/R pulmonaire**

Conséquences de l'I/R	Molécules et cellules impliquées
Sur-régulation de molécules à la surface cellulaire	Molécules d'adhésion (sélectines, immunoglobulines, intégrines) au niveau des cellules pulmonaires endothéliales Facteurs pro-thrombotiques et anti-fibrinolytiques
Libération de médiateurs pro-inflammatoires	Cytokines pro- et anti-inflammatoires (TNF- $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-8, IL-10, IL-12 et IL-18) Lipides (rôle important de la phospholipase A <sub>2</sub> dans la génération de médiateurs lipidiques) Complément Endothéline-1
Activation des leucocytes	Macrophages au cours de l'ischémie Lymphocytes, neutrophiles

## Protection contre les altérations cellulaires et moléculaires liées à l'ischémie/reperfusion

En raison de la complexité des mécanismes cellulaires et moléculaires mis en jeu au cours de l'ischémie/reperfusion, les méthodes de préservation doivent intégrer différentes approches comme pour les autres organes. La spécificité de la préservation pulmonaire concerne en particulier l'intégrité de la préservation de l'endothélium, la réduction de la peroxydation lipidique et la préservation de la fonctionnalité de l'épithélium alvéolaire pulmonaire notamment des pneumocytes alvéolaires de type 2.

## Préconditionnement

Le poumon exposé à une agression développe une protection endogène vis-à-vis d'une agression ultérieure. Comme pour le cœur, les événements déclenchant ces mécanismes de protection endogène peuvent être de courtes périodes d'ischémie, une élévation de la température ou des agents pharmacologiques ciblant des composés impliqués dans l'I/R. Le preconditionnement ischémique améliore la protection du poumon vis-à-vis de l'ischémie/reperfusion par un mécanisme mettant en jeu les canaux  $K_{ATP}$  sarcolemmaux et non les canaux  $K_{ATP}$  mitochondriaux comme c'est le cas pour le cœur (Kandilci et coll., 2006). Le preconditionnement préserve la vasodilatation dépendante de l'endothélium (Kandilci et coll., 2006) et a un effet protecteur sur la compliance du poumon (Featherstone et coll., 2000). Il réduit la libération de cytokines pro-inflammatoires, améliore l'échange de gaz et limite les altérations des propriétés surfactantes (Markart et coll., 2005 ; Waldow et coll., 2005). Une caractéristique du poumon est que le preconditionnement peut s'effectuer par arrêt de la perfusion ou de la ventilation (Featherstone et coll., 2000). Le prétraitement par endotoxine a également été proposé comme méthode de preconditionnement (Markart et coll., 2005). Le preconditionnement systémique par une ischémie courte répétée appliquée aux membres inférieurs permet de protéger la fonction pulmonaire des lésions de l'I/R (Waldow et coll., 2005).

Le preconditionnement par transfert de gènes à l'aide d'adénovirus (administration intraveineuse ou endobronchique) a été pratiqué pour le poumon dans des modèles de rat. Les gènes transférés avec succès incluent notamment ceux codant pour l'oxyde nitrique synthase endothéliale (eNOS) (Suzuki et coll., 2004), la protéine HSP-70 (Hiratsuka et coll., 1999) et la protéine Bcl-2 (Cooke et coll., 2005). L'utilisation de telles techniques chez l'homme est difficilement envisageable ne serait-ce que pour des raisons éthiques.

## Solutions de préservation

Les solutions utilisées pour la préservation du poumon sont de type intracellulaire comme Euro-Collins et UW (*University of Wisconsin*) ou de type extracellulaire tels que Celsior et LPD (*Low Potassium Dextran*) ou Wallwork (cf. revue de De Perrot et Keshavjee (2004) pour tableau récapitulatif de la composition de ces solutions). Le LPD est la seule solution développée spécifiquement pour le poumon avec la présence de dextran qui améliore la déformabilité des érythrocytes et empêche leur agrégation. La solution LPD a été améliorée par l'addition de glucose (solution Perfadex). Cette solution est utilisée par un grand nombre de centres. Comme pour le cœur, la concentration en potassium est considérée comme un élément important. Les solutions à fort potassium entraînent une vasoconstriction et augmentent la

production d'espèces réactives de l'oxygène par les artères pulmonaires (dépolariation des cellules musculaires lisses) dans les modèles expérimentaux chez l'animal (Kelly et coll., 2003). En clinique, de bons résultats ont été aussi obtenus pour la solution LPD-glucose (LPDG) comparée à Euro-Collins (EC) (Struber et coll., 2001 ; Müller et coll., 2002) ; cependant, le bénéfice des solutions extracellulaires est controversé dans certaines études (Aziz et coll., 2003). De Perrot et Keshavjee (2004) présentent un tableau récapitulatif de différentes études cliniques comparant les solutions LPD-glucose et Euro-Collins (tableau 10.II). Parmi les études considérées, cinq montrent une meilleure fonction initiale du greffon pulmonaire avec la solution LPDG qu'avec la solution EC, suivant des critères classiques de récupération fonctionnelle du greffon.

**Tableau 10.II : Comparaison entre LPDG (LPD-glucose perfadex) et EC (Euro-Collins) en transplantation pulmonaire clinique (d'après De Perrot et Keshavjee, 2004)**

Référence	Nombre de patients		Fonction initiale du greffon		
	LPDG	EC	LPDG	EC	p
Müller et coll., 1999	32	48	159 ± 145 <sup>3</sup>	242 ± 265 <sup>3</sup>	0,028
Fisher et coll., 2001	46	48	370 ± 133 <sup>1</sup>	310 ± 134 <sup>1</sup>	0,017
Strüber et coll., 2001	57	68	34 ± 11 <sup>2</sup>	30 ± 10 <sup>2</sup>	0,04
Aziz et coll., 2003	32	37	298 ± 88 <sup>1</sup>	267 ± 78 <sup>1</sup>	ns <sup>4</sup>
Rabanal et coll., 2003	21	25	310 ± 150 <sup>1</sup>	170 ± 102 <sup>1</sup>	< 0,05
Rega et coll., 2003a	50	50	234 ± 20 <sup>3</sup>	309 ± 19 <sup>3</sup>	0,001

<sup>1</sup> Rapport PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ; <sup>2</sup> Compliance du poumon (ml/mmHg) ; <sup>3</sup> Gradient d'oxygène alvéolaire/artériel ; <sup>4</sup> Non significatif

L'utilisation de Celsior pour le poumon a été proposée comme une alternative intéressante car elle apporte différents éléments protecteurs en plus de la composante extracellulaire (Sommer et coll., 2004) mais le bénéfice a été contesté dans d'autres travaux (Wittwer et coll., 2005). En clinique, l'étude de Thabut et coll. (2001) compare les solutions Celsior (n = 21), Cambridge (n = 64), Euro-Collins (n = 61) et UW (n = 24) sur différents paramètres. En utilisant une analyse multivariée, les auteurs montrent que les solutions de type extracellulaire sont associées à une plus faible incidence d'œdème pulmonaire, en revanche la supériorité d'une solution extracellulaire par rapport à l'autre n'est pas établie. Le contenu de la solution pourrait être plus important pour la préservation du poumon que la caractéristique intra- ou extracellulaire de la solution (Paik et coll., 2003). L'addition de composés dans les solutions de conservation peut également protéger le poumon contre l'I/R (tableau 10.III).

**Tableau 10.III : Additifs pendant la préservation (littérature récente)**

Cible	Molécule ou composé pharmacologique	Références
Substrat	Pyruvate	Peltz et coll., 2005
Œdème	PEG	Jayle et coll., 2003
Piégeur des ERO	Glutathion	Sommer et coll., 2005
Inhibition DPP IV	AB192	Zhai et coll., 2007
Donneurs de NO	FK 409	Takeyoshi et coll., 2000
	Nitroglycérine	Wittwer et coll., 2003
	Nitroprusside	Lockinger et coll., 2001
	L-arginine	Chu et coll., 2004
Co-enzyme de NOS	BH4 (tetrahydrobiopterin)	Hillinger et coll., 2001
2 <sup>nd</sup> messenger NO	8-Br-cGMP	Hillinger et coll., 2001
Inhibition p38 MAPK	FR167653	Hashimoto et coll., 2002
Inhibition JNK	SP600125	Ishii et coll., 2004
Inflammation	Prostaglandine E1	de Perrot et coll., 2001
	Iloprost	Gohrbandt et coll., 2005
	Aprotinine	Bittner et coll., 2006
Stabilisation microtubules	Paclitaxel	Suzuki et coll., 2004
Antagoniste PAF	BN52021	Fehrenbach et coll., 2001
	FR128998	Iwazaki et coll., 2001

ERO : espèces réactives de l'oxygène ; JNK : *c-JunNH2-terminal Kinase* ; NO : oxyde nitrique ; NOS : oxyde nitrique synthase ; PAF : facteur d'activation des plaquettes

## Méthodes de perfusion et de stockage

La méthode la plus utilisée en clinique et aussi la plus simple est l'administration d'une solution cardioplégique froide suivie d'un stockage hypothermique. Cette méthode est cependant l'objet de discussions concernant les conditions de l'infusion de la solution (utilisation de vasodilatateurs, pression de l'infusion), la voie de l'infusion (artère pulmonaire, oreillettes gauches, veines pulmonaires et/ou artères bronchiques), les conditions de stockage (température, oxygénation et état d'inflation du poumon).

La température de 4°C est largement utilisée mais expérimentalement de bons résultats ont été obtenus à 10°C et 12°C. Le prolongement de la préservation au froid entraîne une altération de la fonction de la barrière endothéliale caractérisée par un œdème et une infiltration des leucocytes (Hanusch et coll., 2007). Il est clair que l'effet de la température dépend de la composition de la solution, des températures plus basses étant moins délétères si la solution comprend des agents imperméants.

La voie d'infusion classique est la voie antérograde par le tronc artériel pulmonaire. La perfusion rétrograde par les veines pulmonaires ou la

perfusion des artères bronchiques ont été proposées. De bons résultats ont été obtenus avec la combinaison d'un *flush* antérograde par l'artère pulmonaire et par l'artère bronchique résultant en un refroidissement plus efficace des compartiments pulmonaires et une diminution de l'inflammation (Roe et coll., 2005). Toutefois, d'autres travaux ont montré la supériorité de l'infusion par voie rétrograde par rapport à la voie antérograde sur la récupération du greffon (Wittwer et coll., 2004a). Des méthodes alternatives à la perfusion de solutions de préservation ont également été proposées. Le refroidissement local *in situ* du greffon donne également de bons résultats surpassant même dans une étude expérimentale les résultats obtenus avec le LPD (Kutschka et coll., 2003). Une autre alternative à la perfusion de solution est l'administration de perfluorocarbones par la voie endobronchique mais la récupération de la fonction pulmonaire reste inférieure à celle obtenue avec la perfusion de la solution LPD (Loehe et coll., 2000). Ces différentes méthodes ont fait pour l'instant l'objet d'études expérimentales chez l'animal mais il n'existe actuellement aucune étude réellement convaincante chez l'homme. Elles pourraient présenter un avantage notamment pour améliorer la préservation dans le cas des prélèvements sur donneurs à cœur arrêté.

Le collapsus des alvéoles pulmonaires pendant la période d'ischémie est dommageable, aussi est-il recommandé de gonfler les poumons à 50 % de leur capacité totale. Une notion de contenu optimal en oxygène est également à considérer. Une fraction en oxygène de 50 % ou moins est recommandée en clinique pour limiter la production des ERO et la peroxydation des lipides.

### **Prétraitement**

Chez l'animal, des méthodes de prétraitement du poumon du donneur, avant la perfusion de la solution, protègent contre l'I/R. Le prétraitement du poumon a donné de bons résultats sur la récupération de l'hémodynamique pulmonaire (Koletsis et coll., 2003). Le poumon présente l'avantage de pouvoir être traité par des drogues administrées par nébulisation (Schutte et coll., 2003). Geudens et coll. (2007) ont ainsi montré qu'un prétraitement par nébulisation de N-acétyl cystéine (agissant sur le glutathion) permettait de limiter l'inflammation liée à l'I/R. La nébulisation de prostacycline et de rolipram (inhibiteur de la phosphodiesterase cAMP dépendante) avant ou au tout début de l'ischémie est un autre moyen proposé pour limiter les altérations de la microcirculation lors de la reperfusion (Schutte et coll., 2003). L'application de ces méthodes est envisageable en clinique. La nébulisation de drogues avant ou au tout début de l'ischémie pourrait être bien acceptée dans les pays avec consentement présumé pour autant qu'une objection au don d'organes n'ait pas été établie.

## Préservation des greffons « marginaux »

La nécessité d'étendre le pool des donneurs est cruciale dans le cas de la greffe pulmonaire puisqu'il est considéré qu'environ 20 % des donneurs en état de mort encéphalique ont des poumons transplantables (Geudens et coll., 2007). Comme pour les autres organes, le recours à des donneurs à cœur arrêté est une possibilité étudiée actuellement.

### *Donneurs à cœur arrêté*

Dans le cas des donneurs à cœur arrêté, les organes sont soumis à une période d'ischémie chaude précédant le prélèvement. Un certain nombre de résultats expérimentaux et cliniques montrent que le poumon peut relativement bien tolérer une heure d'ischémie chaude (Loehe et coll., 2000). En effet, la respiration cellulaire du parenchyme pulmonaire ne repose pas sur la perfusion vasculaire mais peut se faire directement à travers la paroi alvéolaire par des processus d'échange de gaz passifs. Cette propriété fait du poumon un organe favorable à des prélèvements sur des donneurs à cœur arrêté. Les lésions induites par une heure d'ischémie chaude seraient même inférieures aux altérations causées par la mort encéphalique (Neyrinck et coll., 2006). Néanmoins, ces greffons nécessitent des techniques de préservation optimisées et un certain nombre de groupes se sont intéressés à leur prise en charge. La perfusion rétrograde de la solution après la période d'ischémie chaude est conseillée pour faciliter la circulation pulmonaire (Wittwer et coll., 2004b). Le refroidissement local *in situ* ou la ventilation des poumons après la période d'ischémie chaude sont deux méthodes alternatives (Rega et coll., 2003b). D'autres moyens proposés avec de bons résultats concernent par exemple l'inhalation d'oxyde nitrique (Takashima et coll., 2006) ou d'isoflurane (Fujinaga et coll., 2006) pendant la période d'ischémie chaude ou le prétraitement par la N-acétyl cystéine (Geudens et coll., 2007). Des traitements efficaces peuvent également être réalisés au moment de la reperfusion (Ardehali et coll., 2003).

L'utilisation de poumons de donneurs à cœur arrêté nécessite aussi des méthodes d'évaluation de la fonction de ces greffons à l'aide de systèmes de perfusion et ventilation *ex vivo* (Aitchison et coll., 2001 ; Rega et coll., 2003c ; Steen et coll., 2003 ; Inokawa et coll., 2006).

### *Donneurs âgés*

L'utilisation d'organes de donneurs âgés semble problématique pour le poumon. En effet, l'impact de l'âge du donneur sur le syndrome d'I/R est significatif au-delà de 55 ans (Fiser et coll., 2001b). En particulier, le niveau de la cytokine anti-inflammatoire IL-10 est inversement corrélé à l'âge du donneur.



## Conséquences post-transplantation du syndrome d'ischémie/reperfusion

Les lésions associées à l'ischémie/reperfusion ont un impact majeur sur la mortalité et la morbidité post-transplantation, notamment sur la défaillance primaire du greffon pulmonaire mais aussi sur le développement du rejet aigu et du rejet chronique.

### Défaillance primaire du greffon

La défaillance primaire du greffon (PGF pour *Primary Graft Failure*), qui se produit chez 10 à 30 % des patients, est responsable d'une morbidité et mortalité significatives après la transplantation pulmonaire (Christie et coll., 2005a). Elle est la première cause de mortalité dans les premiers jours suivant la transplantation. Ainsi, Christie et coll. (2005b) rapportent que le PGF provoque 48,7 % du nombre total de décès jusqu'à 30 jours après la transplantation. Les symptômes en sont une hypoxémie, un œdème, une perméabilité capillaire augmentée, une inadéquation entre ventilation et perfusion et des infiltrats radiographiques (Christie et coll., 2005c). L'ischémie/reperfusion est considérée comme étant le facteur principal favorisant cette complication (Prekker et coll., 2006). L'induction de l'immunité innée est étroitement liée au PGF (Carter et Davis, 2006), notamment par l'intermédiaire de modifications associées à l'ischémie favorisant l'exposition d'antigènes du soi. Il a été montré par exemple pour le poumon que le collagène de type V (Col(V)) était exposé par les événements de l'ischémie/reperfusion et activait des cellules T spécifiques. Cette auto-immunité anti-col(V) a pu être associée au déclenchement de la défaillance du greffon (Bobadilla et coll., 2008).

La défaillance primaire du greffon est un événement potentiellement réversible, il est donc important de disposer de mesures fiables permettant d'évaluer cette complication et d'intervenir à temps. Différentes mesures ont été proposées (Prekker et coll., 2006). Un score de 0 à 3 a été établi par les recommandations de la Société internationale de transplantation cardiaque et pulmonaire (ISHLT, *International Society for Heart and Lung Transplantation*), fondé sur le rapport de la pression partielle en oxygène artériel à la fraction d'oxygène inspiré (rapport P/F) et la radiographie pulmonaire (Christie et coll., 2005c). Les mesures thérapeutiques incluent une ventilation mécanique prolongée, la diurèse ainsi que l'oxygénation membranaire extracorporelle représentant une méthode très efficace de support (Hartwig et coll., 2005). La recherche de marqueurs prédictifs du PGF est un enjeu important. Certaines molécules identifiées chez le receveur constituent une piste pour la détermination de marqueurs prédictifs de la PGF. L'étude de Mathur et coll. (2006) montre une corrélation entre la concentration des cytokines dans

la circulation du receveur peu après la transplantation et le développement de la PGF. Christie et coll. (2007) ont montré qu'un niveau bas de protéine C et une concentration élevée en PAI-1 (*Plasminogen Activator Inhibitor 1*) dans le plasma du receveur dans les 72 heures suivant la transplantation étaient associés à la survenue d'une défaillance primaire du greffon.

### Rejet aigu

L'activation de l'immunité innée par l'ischémie/reperfusion joue un rôle important dans le développement du rejet aigu (Palmer et coll., 2003). Comme pour le PGF, l'exposition d'autoantigènes (col(V)), induits notamment par l'augmentation de l'activité des métalloprotéases (MMP) par l'ischémie/reperfusion, participe au rejet aigu (Yoshida et coll., 2006).

### Lésions chroniques

La principale manifestation des lésions chroniques est le syndrome de bronchiolite oblitérante (BOS) qui affecte jusqu'à 70 % des patients 5 ans après la transplantation. Les mécanismes par lesquels l'ischémie/reperfusion conduit au développement des lésions ne sont pas encore bien connus. Cependant, certains travaux suggèrent un rôle clé de l'auto-immunité (Haq et coll., 2002 ; Bharat et coll., 2006) dans le développement de la bronchiolite oblitérante. Comme dans le PGF et le rejet aigu, on retrouve le rôle du collagène V, entraînant le développement de cellules T autoréactives et le déclenchement d'une réponse auto-immune (Haq et coll., 2002). Un certain nombre d'autres événements liés à l'ischémie/reperfusion tels que la sur-régulation de molécules d'adhésion ou de cytokines pro-inflammatoires sont susceptibles d'avoir un impact sur le développement des lésions chroniques (Mathur et coll., 2006).

**En conclusion**, les lésions associées à l'ischémie/reperfusion restent un problème majeur pour la transplantation pulmonaire. Les techniques de préservation sont encore insuffisantes et leur optimisation passe par une meilleure connaissance des mécanismes délétères mis en jeu au cours de l'ischémie et de la reperfusion et de leur impact sur le développement de la dysfonction précoce du greffon et des lésions chroniques. Une meilleure compréhension des mécanismes et une amélioration des méthodes de préservation devraient non seulement accroître le succès de la transplantation mais aussi permettre de recruter un plus grand nombre de greffons. La composition des solutions de préservation utilisées en transplantation pulmonaire reste encore à optimiser ainsi que la voie de la perfusion. Par rapport aux autres organes, le poumon présente quelques spécificités pouvant être mis à profit pour améliorer

sa préservation ou pour élargir les critères de recrutement des greffons. La présence d'oxygène dans les alvéoles, indépendamment de la perfusion, permet aux poumons de supporter une période d'ischémie chaude et représente une situation favorable au prélèvement sur donneur à cœur arrêté. D'autre part, il existe une voie additionnelle d'intervention contre les dommages liés à l'ischémie/reperfusion avec la possibilité d'administrer des drogues par nébulisation, avant, pendant ou après l'ischémie. Enfin, les travaux récents sur le rôle de l'exposition du collagène de type V par l'ischémie/reperfusion dans l'induction d'une réponse immune post-transplantation sont prometteurs pour limiter la défaillance primaire du greffon et la bronchiolite oblitérante qui sont responsables actuellement de la faible survie en transplantation pulmonaire comparée aux autres organes.

## BIBLIOGRAPHIE

AITCHISON JD, ORR HE, FLECKNELL PA, KIRBY JA, DARK JH. Functional assessment of non-heart-beating donor lungs: prediction of post-transplant function. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001, **20** : 187-194

ARDEHALI A, LAKS H, RUSSELL H, LEVINE M, SHPINER R, et coll. Modified reperfusion and ischemia-reperfusion injury in human lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003, **126** : 1929-1934

AZIZ TM, PILLAY TM, CORRIS PA, FORTY J, HILTON CJ, et coll. Perfadex for clinical lung procurement: is it an advance? *Ann Thorac Surg* 2003, **75** : 990-995

BHARAT A, FIELDS RC, TRULOCK EP, PATTERSON GA, MOHANAKUMAR T. Induction of IL-10 suppressors in lung transplant patients by CD4+25+ regulatory T cells through CTLA-4 signaling. *J Immunol* 2006, **177** : 5631-5638

BITTNER HB, RICHTER M, KUNTZE T, RAHMEL A, DAHLBERG P, et coll. Aprotinin decreases reperfusion injury and allograft dysfunction in clinical lung transplantation. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006, **29** : 210-215

BOBADILLA JL, LOVE RB, JANKOWSKA-GAN E, XU Q, HAYNES LD, et coll. Th-17, monokines, collagen type V, and primary graft dysfunction in lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2008, **177** : 660-668

CARTER YM, DAVIS RD. Primary graft dysfunction in lung transplantation. *Semin Respir Crit Care Med* 2006, **27** : 501-507

CHRISTIE JD, VAN RAEMDONCK D, DE PERROT M, BARR M, KESHAVJEE S, et coll. Report of the ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction part I: introduction and methods. *J Heart Lung Transplant* 2005a, **24** : 1451-1453

CHRISTIE JD, SAGER JS, KIMMEL SE, AHYA VN, GAUGHAN C, et coll. Impact of primary graft failure on outcomes following lung transplantation. *Chest* 2005b, **127** : 161-165

CHRISTIE JD, CARBY M, BAG R, CORRIS P, HERTZ M, et coll. Report of the ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction part II: definition. A consensus statement of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2005c, **24** : 1454-1459

CHRISTIE JD, ROBINSON N, WARE LB, PLOTNICK M, DE ANDRADE J, et coll. Association of protein C and type 1 plasminogen activator inhibitor with primary graft dysfunction. *Am J Respir Crit Care Med* 2007, **175** : 69-74

CHU Y, WU YC, CHOU YC, CHUEH HY, LIU HP, et coll. Endothelium-dependent relaxation of canine pulmonary artery after prolonged lung graft preservation in University of Wisconsin solution: role of L-arginine supplementation. *J Heart Lung Transplant* 2004, **23** : 592-598

COOKE DT, HOYT EG, ROBBINS RC. Overexpression of human Bcl-2 in syngeneic rat donor lungs preserves posttransplant function and reduces intragraft caspase activity and interleukin-1beta production. *Transplantation* 2005, **79** : 762-767

DE PERROT M, KESHAVJEE S. Lung preservation. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2004, **16** : 300-308

DE PERROT M, FISCHER S, LIU M, JIN R, BAI XH, et coll. Prostaglandin E1 protects lung transplants from ischemia-reperfusion injury: a shift from pro- to anti-inflammatory cytokines. *Transplantation* 2001, **72** : 1505-1512

DE PERROT M, LIU M, WADDELL TK, KESHAVJEE S. Ischemia-reperfusion-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2003, **167** : 490-511

FEATHERSTONE RL, CHAMBERS DJ, KELLY FJ. Ischemic preconditioning enhances recovery of isolated rat lungs after hypothermic preservation. *Ann Thorac Surg* 2000, **69** : 237-242

FEHRENBACH A, WITTEWIT T, MEYER D, VON VIETINGHOFF S, VIEHOVER M, et coll. Nitroglycerin alters alveolar type II cell ultrastructure after ischemia and reperfusion. *J Heart Lung Transplant* 2001, **20** : 876-888

FISER SM, TRIBBLE CG, LONG SM, KAZA AK, COPE JT, et coll. Lung transplant reperfusion injury involves pulmonary macrophages and circulating leukocytes in a biphasic response. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001a, **121** : 1069-1075

FISER SM, KRON IL, LONG SM, KAZA AK, KERN JA, et coll. Influence of graft ischemic time on outcomes following lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2001b, **20** : 1291-1296

FISHER AB, AL-MEHDI AB, WEI Z, SONG C, MANEVICH Y. Lung ischemia: endothelial cell signaling by reactive oxygen species. A progress report. *Adv Exp Med Biol* 2003, **510** : 343-347

FISHER S, MATTE -MARTYN A, DE PERROT M, WADDELL TK, SEKINE Y, et coll. Low potassium dextran preservation solution improves lung function after human lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001, **121** : 594-596

FUJINAGA T, NAKAMURA T, FUKUSE T, CHEN F, ZHANG J, et coll. Isoflurane inhalation after circulatory arrest protects against warm ischemia reperfusion injury of the lungs. *Transplantation* 2006, **82** : 1168-1174

GEUDENS N, VAN DE WAUWER C, NEYRINCK AP, TIMMERMANS L, VANHOOREN HM, et coll. N-acetyl cysteine pre-treatment attenuates inflammatory changes in the warm ischemic murine lung. *J Heart Lung Transplant* 2007, **26** : 1326-1332

GOHRBANDT B, SOMMER SP, FISCHER S, HOHLFELD JM, WARNECKE G, et coll. Iloprost to improve surfactant function in porcine pulmonary grafts stored for twenty-four hours in low-potassium dextran solution. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005, **129** : 80-86

HANUSCH C, NOWAK K, GILL IS, TORLITZ P, RAFAT N, et coll. Hypothermic preservation of lung allograft inhibits cytokine-induced chemoattractant-1, endothelial leucocyte adhesion molecule, vascular cell adhesion molecule-1 and intracellular adhesion molecule-1 expression. *Clin Exp Immunol* 2007, **149** : 364-371

HAQUE MA, MIZOBUCHI T, YASUFUKU K, FUJISAWA T, BRUTKIEWICZ RR, et coll. Evidence for immune responses to a self-antigen in lung transplantation: role of type V collagen-specific T cells in the pathogenesis of lung allograft rejection. *J Immunol* 2002, **169** : 1542-1549

HARTWIG MG, APPEL JZ RD, CANTU E RD, SIMSIR S, LIN SS, et coll. Improved results treating lung allograft failure with venovenous extracorporeal membrane oxygenation. *Ann Thorac Surg* 2005, **80** : 1872-1879

HASHIMOTO N, TAKEYOSHI I, YOSHINARI D, TSUTSUMI H, TOKUMINE M, et coll. Effects of a p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor as an additive to Euro-Collins solution on reperfusion injury in canine lung transplantation I. *Transplantation* 2002, **74** : 320-326

HILLINGER S, SANDERA P, CARBONI GL, STAMMBERGER U, ZALUNARDO M, et coll. Survival and graft function in a large animal lung transplant model after 30 h preservation and substitution of the nitric oxide pathway. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001, **20** : 508-513

HIRATSUKA M, MORA BN, YANO M, MOHANAKUMAR T, PATTERSON GA. Gene transfer of heat shock protein 70 protects lung grafts from ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1999, **67** : 1421-1427

INOKAWA H, SEVALA M, FUNKHOUSER WK, EGAN TM. Ex-vivo perfusion and ventilation of rat lungs from non-heart-beating donors before transplant. *Ann Thorac Surg* 2006, **82** : 1219-1225

ISHII M, SUZUKI Y, TAKESHITA K, MIYAO N, KUDO H, et coll. Inhibition of c-Jun NH2-terminal kinase activity improves ischemia/reperfusion injury in rat lungs. *J Immunol* 2004, **172** : 2569-2577

IWAZAKI S, TAKEYOSHI I I, OHWADA S, SUNOSE Y, AIBA M, et coll. FR128998 (a PAF Receptor Antagonist) counters the increased pulmonary vascular resistance associated with ischemia-reperfusion injury in the canine lung. *Int J Angiol* 2001, **10** : 10-14

JAYLE C, CORBI P, EUGENE M, CARRETIER M, HEBRARD W, et coll. Beneficial effect of polyethylene glycol in lung preservation: early evaluation by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Ann Thorac Surg* 2003, **76** : 896-902

KANDILCI HB, GUMUSEL B, DEMIRYUREK AT, LIPPTON H. Preconditioning modulates pulmonary endothelial dysfunction following ischemia-reperfusion injury in the rat lung: role of potassium channels. *Life Sci* 2006, **79** : 2172-2178

KELLY RF, MURAR J, HONG Z, NELSON DP, HONG F, et coll. Low potassium dextran lung preservation solution reduces reactive oxygen species production. *Ann Thorac Surg* 2003, **75** : 1705-1710

KOLETSIS E, CHATZIMICHALIS A, FOTOPOULOS V, KOKKINIS K, PAPADIMITRIOU E, et coll. Donor lung pretreatment with surfactant in experimental transplantation preserves graft hemodynamics and alveolar morphology. *Exp Biol Med (maywood)* 2003, **228** : 540-545

KUTSCHKA I, SOMMER SP, HOHLFELD JM, WARNECKE G, MORANCHO M, et coll. In-situ topical cooling of lung grafts: early graft function and surfactant analysis in a porcine single lung transplant model. *Eur J Cardiothorac Surg* 2003, **24** : 411-419

LOCKINGER A, SCHUTTE H, WALMRATH D, SEEGER W, GRIMMINGER F. Protection against gas exchange abnormalities by pre-aerosolized PGE1, iloprost and nitroprusside in lung ischemia-reperfusion. *Transplantation* 2001, **71** : 185-193

LOEHE F, MUELLER C, BITTMANN I, MESSMER K, SCHILDBERG FW. Influence of long-term preservation with endobronchially administered perfluorodecalin on pulmonary graft function. *Transplantation* 2000, **70** : 1417-1424

MARKART P, SCHMIDT R, RUPPERT C, HORES C, SILBER RE, et coll. Ischemic and endotoxin pre-conditioning reduce lung reperfusion injury-induced surfactant alterations. *J Heart Lung Transplant* 2005, **24** : 1680-1689

MATHUR A, BAZ M, STAPLES ED, BONNELL M, SPECKMAN JM, et coll. Cytokine profile after lung transplantation: correlation with allograft injury. *Ann Thorac Surg* 2006, **81** : 1844-1849

MÜLLER C, FÜRST H, REICHENSPURNER H, BRIEGEL J, GROH J, REICHART B. Lung procurement by low-potassium dextran and the effect on preservation injury. Munich Lung Transplant Group. *Transplantation* 1999, **68** : 1139-1143

MÜLLER C, BITTMANN I, HATZ R, KELLNER B, SCHELLING G, et coll. Improvement of lung preservation -- from experiment to clinical practice. *Eur Surg Res* 2002, **34** : 77-82

NEYRINCK AP, VAN DE WAUWER C, GEUDENS N, REGA FR, VERLEDEN GM, et coll. Comparative study of donor lung injury in heart-beating versus non-heart-beating donors. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006, **30** : 628-636

PAIK HC, HOFFMANN SC, EGAN TM. Pulmonary preservation studies: effects on endothelial function and pulmonary adenine nucleotides. *Transplantation* 2003, **75** : 439-444

PALMER SM, BURCH LH, DAVIS RD, HERCZYK WF, HORWELL DN, et coll. The role of innate immunity in acute allograft rejection after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2003, **168** : 628-632

PELTZ M, HAMILTON TT, HE TT, ADAMS GA TH, KOSHY S, et coll. Lung preservation solution substrate composition affects rat lung oxidative metabolism during hypothermic storage. *Respir Physiol Neurobiol* 2005, **148** : 275-283

PREKKER ME, NATH DS, WALKER AR, JOHNSON AC, HERTZ MI, et coll. Validation of the proposed International Society for Heart and Lung Transplantation grading system for primary graft dysfunction after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2006, **25** : 371-378

RABANAL JM, IBANEZ AM, MONS R, GONZALEZ AM, CARBAJO M, et coll. Influence of preservation solution on early lung function (Euro-Collins versus perfadex). *Transplant Proc* 2003, **35** : 1938-1939

REGA F, VERLEDEN G, VANHAECKE J, DAENEN W, VAN RAEMDONCK D. Switch from Eurocollins to perfadex for pulmonary graft preservation resulted in superior outcome in transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2003a, **22** : S111

REGA FR, JANNIS NC, VERLEDEN GM, FLAMENG WJ, LERUT TE, et coll. Should we ventilate or cool the pulmonary graft inside the non-heart-beating donor? *J Heart Lung Transplant* 2003b, **22** : 1226-1233

REGA FR, JANNIS NC, VERLEDEN GM, LERUT TE, VAN RAEMDONCK DE. Long-term preservation with interim evaluation of lungs from a non-heart-beating donor after a warm ischemic interval of 90 minutes. *Ann Surg* 2003c, **238** : 782-792

ROE DW, FEHRENBACHER JW, NIEMEIER MR, ZIEGER M, LABARRERE C, et coll. Lung preservation: pulmonary flush route affects bronchial mucosal temperature and expression of IFN-gamma and Gro in regional lymph nodes. *Am J Transplant* 2005, **5** : 995-1001

SCHUTTE H, SCHELL A, SCHAFFER C, GHOFRANI A, THEO SCHERMULY R, et coll. Subthreshold doses of nebulized prostacyclin and rolipram synergistically protect against lung ischemia-reperfusion. *Transplantation* 2003, **75** : 814-821

SOMMER SP, WARNECKE G, HOHLFELD JM, GOHRBANDT B, NIEDERMEYER J, et coll. Pulmonary preservation with LPD and Celsior solution in porcine lung transplantation after 24 h of cold ischemia. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004, **26** : 151-157

SOMMER SP, GOHRBANDT B, FISCHER S, HOHLFELD JM, WARNECKE G, et coll. Glutathione improves the function of porcine pulmonary grafts stored for twenty-four hours in low-potassium dextran solution. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005, **130** : 864-869

STEEN S, LIAO Q, WIERUP PN, BOLYS R, PIERRE L, et coll. Transplantation of lungs from non-heart-beating donors after functional assessment ex vivo. *Ann Thorac Surg* 2003, **76** : 244-252

STRÜBER M, WILHELMI M, HARRINGER W, NIEDERMEYER J, ANSSAR M, et coll. Flush perfusion with low potassium dextran solution improves early graft function in clinical lung transplantation. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001, **19** : 190-194

SUZUKI S, BING H, SUGAWARA T, MATSUDA Y, TABATA T, et coll. Paclitaxel prevents loss of pulmonary endothelial barrier integrity during cold preservation. *Transplantation* 2004, **78** : 524-529

TAKASHIMA S, KOUKOULIS G, INOKAWA H, SEVALA M, EGAN TM. Inhaled nitric oxide reduces ischemia-reperfusion injury in rat lungs from non-heart-beating donors. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006, **132** : 132-139

TAKEYOSHI I, OTANI Y, YOSHINARI D, KAWASHIMA Y, OHWADA S, et coll. Beneficial effects of novel nitric oxide donor (FK409) on pulmonary ischemia-reperfusion injury in rats. *J Heart Lung Transplant* 2000, **19** : 185-192

THABUT G, VINATIER I, BRUGIÈRE O, LESÈCHE G, LOIRAT P, et coll. Influence of preservation solution on early graft failure in clinical lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, **164** : 1204-1208

WALDOW T, ALEXIOU K, WITT W, ALBRECHT S, WAGNER F, et coll. Protection against acute porcine lung ischemia/reperfusion injury by systemic preconditioning via hind limb ischemia. *Transpl Int* 2005, **18** : 198-205

WITTWER T, ALBES JM, FEHRENBACH A, PECH T, FRANKE UF, et coll. Experimental lung preservation with Perfadex: effect of the NO-donor nitroglycerin on postischemic outcome. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003, **125** : 1208-1216

WITTWER T, FRANKE U, FEHRENBACH A, MEYER D, SANDHAUS T, et coll. Impact of retrograde graft preservation in Perfadex-based experimental lung transplantation. *J Surg Res* 2004a, **117** : 239-248

WITTWER T, FRANKE UF, FEHRENBACH A, SANDHAUS T, PFEIFER F, et coll. Lung retrieval from non-heart-beating donors: first experience with an innovative preservation strategy in a pig lung transplantation model. *Eur Surg Res* 2004b, **36** : 1-7

WITTWER T, FRANKE UF, FEHRENBACH A, OCHS M, SANDHAUS T, et coll. Experimental lung transplantation: impact of preservation solution and route of delivery. *J Heart Lung Transplant* 2005, **24** : 1081-1090

YOSHIDA S, HAQUE A, MIZOBUCHI T, IWATA T, CHIYO M, et coll. Anti-type V collagen lymphocytes that express IL-17 and IL-23 induce rejection pathology in fresh and well-healed lung transplants. *Am J Transplant* 2006, **6** : 724-735

ZHAI W, CARDELL M, DE MEESTER I, AUGUSTYNS K, HILLINGER S, et coll. Intragraft DPP IV inhibition attenuates post-transplant pulmonary ischemia/reperfusion injury after extended ischemia. *J Heart Lung Transplant* 2007, **26** : 174-180





# IV

## Caractéristiques

du donneur conditionnant

la greffe



# 11

## Transplantation rénale : élargissement des critères de sélection des donneurs

Malgré une augmentation significative du nombre de prélèvements destinés à la transplantation rénale réalisée en France au cours des dernières années, il existe aujourd'hui, du fait de la prévalence élevée de la maladie rénale chronique, une situation préoccupante de pénurie de greffons. Alors que 2 911 transplantations rénales ont été réalisées en 2007 en France, 3 510 nouveaux patients ont été inscrits sur liste d'attente durant cette période et 6 491 patients étaient en attente d'une greffe rénale au 1<sup>er</sup> janvier 2008 (données de l'Agence de la biomédecine<sup>13</sup>). Dans les régions contribuant au Réseau épidémiologie et information en néphrologie (Rein), le taux d'incidence annuel (par million d'habitants) de l'insuffisance rénale chronique traitée, standardisé sur l'âge et le sexe, est passé de 128,2 en 2002 à 139 en 2005 ; le nombre de personnes admises en affection longue durée pour insuffisance rénale chronique (ALD19) a doublé entre 2000 et 2005. Cette augmentation est principalement liée aux nouveaux cas d'insuffisance rénale chronique survenant chez des individus de plus de 60 ans. En conséquence, 3,3 patients sont aujourd'hui candidats pour 1 greffon utilisable dans l'année<sup>14</sup> (données de l'Agence de la biomédecine 2007). Cette situation épidémiologique nécessite l'accroissement des sources potentielles de greffons et à ce titre le développement d'une recherche clinique active permettant l'évaluation et l'optimisation des différentes stratégies destinées à accroître leur nombre. Parmi ces stratégies figurent l'utilisation de greffons à critère élargi, en particulier provenant de donneurs dits « marginaux », le développement de la greffe à partir de donneurs vivants (ABO compatible et incompatible) et le développement du prélèvement chez le donneur à cœur arrêté. Nous présentons ici dans chacune de ces situations, les résultats issus des

13. Voir le bilan 2007 des activités de prélèvement et de greffe rénale en France à l'adresse suivante : [http://www.agence-biomedecine.fr/fr/rapport\\_2007](http://www.agence-biomedecine.fr/fr/rapport_2007)

14. Le nombre total de candidats pour un greffon utilisable dans l'année permet de mesurer l'évolution de la pénurie de greffon.

données de la littérature, les perspectives de développement de ces différentes stratégies ainsi que les objectifs de recherche destinés à mieux définir ou améliorer leurs indications et leurs résultats.

## **Donneurs à critères dits « élargis » ou donneurs dits « marginaux »**

L'utilisation des greffons provenant de donneurs à critères dits « élargis » répond à une double contrainte : la nécessité d'une part d'augmenter le pool de greffons disponibles et d'autre part l'évolution épidémiologique de l'âge et des caractéristiques des donneurs au cours des dernières années. En France, l'âge moyen des donneurs est passé de 37 ans en 1996 à 42,1 ans en 2001 (Eggers, 1988). En 2005, 26,8 % des donneurs étaient âgés de plus de 60 ans (Gridelli et Remuzzi, 2000). La proportion de donneurs de moins de 25 ans est en constante baisse alors que la proportion des donneurs de plus de 55 ans ne cesse d'augmenter du fait de l'augmentation des causes de décès d'origine vasculaire (qui représente actuellement plus de 50 % des causes de décès en état de mort encéphalique). Ces nouvelles caractéristiques épidémiologiques ont rapidement confronté les équipes de transplantation à des questions nouvelles : définition des critères d'acceptabilité ou de refus de ces organes, résultats et surtout définition des stratégies d'optimisation de la prise en charge des transplantations avec de tels donneurs.

### **Définition des donneurs aux critères élargis**

C'est à partir de données rétrospectives issues des grands registres nord-américains UNOS (*United Network for Organ Sharing*) que les premières définitions des greffons marginaux ont été établies. Ainsi en 2002, le groupe de Port (Nyberg et coll., 2003) a identifié 4 facteurs associés de façon significative et indépendante à une diminution de la survie des greffons : l'âge du donneur supérieur à 40 ans ou inférieur à 10 ans ; une fonction rénale définie par une créatinine supérieure à 150  $\mu\text{mol/l}$  ; une histoire d'hypertension artérielle ; un décès par accident vasculaire cérébral. Les donneurs aux critères élargis ont alors été définis en utilisant un modèle de régression de Cox comme tout donneur dont l'organe entraîne un risque relatif de perte du greffon supérieur à 1,7 par rapport à un rein idéal. Ces donneurs incluent donc tous les donneurs de 60 ans et plus et ceux de 50 à 59 ans avec au moins deux facteurs de risque associés parmi les trois suivants : un décès de cause cérébro-vasculaire, un antécédent d'hypertension artérielle et une créatinine supérieure à 150  $\mu\text{mol/l}$  lors du prélèvement. Cette définition (Hariharan et coll., 1997) est aujourd'hui la plus utilisée pour la définition des greffons provenant de donneurs marginaux. D'autres études ont par la

suite confirmé l'utilisation de ces facteurs pour définir les reins marginaux. En 2003, Nyberg a confirmé la corrélation entre l'âge du donneur, le décès de cause cérébro-vasculaire, la fonction rénale avant transplantation, l'histoire d'hypertension artérielle (HTA) et la fonction précoce du greffon (Nyberg et coll., 2003). En France, une étude réalisée à partir des données rétrospectives centralisées auprès de l'Agence de la biomédecine a également retrouvé par une analyse multivariée que les décès par accident vasculaire cérébral, l'histoire d'HTA et la créatinine  $> 150 \mu\text{mol/l}$  étaient associés de façon indépendante à une diminution de la survie du greffon (Pessione et coll., 2003). En France, environ 30 % des transplantations rénales sont réalisées à partir d'un donneur aux critères élargis définis selon les critères de Port et Nyberg (données de l'Agence de la biomédecine, 2007).

### Devenir du greffon après greffe de rein marginal

La transplantation rénale a démontré son intérêt en termes d'amélioration de la qualité et de la durée de vie des patients avec une diminution du taux de mortalité des insuffisants rénaux chroniques terminaux allant de 82 % à 42 % selon les sous-groupes par rapport aux autres techniques de prise en charge de l'insuffisance rénale chronique terminale (Rosengard et coll., 2002). Ce bénéfice pour les patients greffés avec un rein marginal est néanmoins clairement inférieur à celui obtenu chez les patients greffés avec un rein standard. En effet, Pessione et coll. (2003) ont mis en évidence un taux annuel de mortalité de 100 pour 1 000 patients-années dans le cas d'une greffe à partir d'un donneur marginal contre 48 pour 1 000 patients-années en cas de greffe avec un rein standard. La survie des patients à 1 an et 5 ans est respectivement de 90,6 % et 69 % en cas de greffon marginal et de 94,5 % et 81,2 % avec un rein standard. Une autre équipe a confirmé ces résultats avec une survie des patients à 5 ans de 74 % en cas de rein marginal contre 80 % avec un greffon optimal (Metzger et coll., 2003). Cependant, la survie des patients greffés avec un rein marginal est meilleure que celle des patients sur liste d'attente restant en dialyse avec un gain d'espérance de vie moyen de l'ordre de 5 ans (Metzger et coll., 2003). Des travaux récents ont fortement suggéré que le risque cardiovasculaire d'un patient transplanté est susceptible d'être influencé en partie par l'âge du donneur (Delahousse et coll., 2008). Les mécanismes impliqués n'ont pas été clairement identifiés et ces résultats doivent être confirmés par d'autres études cliniques.

Par définition, la plupart des données de la littérature confirment que la survie des greffons marginaux est inférieure à celle des reins considérés comme optimaux (Nyberg et coll., 2003). Selon les études de registre nord-américaines, la survie à long terme des greffons marginaux est inférieure de 5 à 15 % à celle des greffons dits optimaux (Chertow et coll., 1996 ; Wolfe et coll., 1999 ; Pessione et coll., 2003).

## **Optimisation des greffes à partir d'un donneur marginal**

Cette optimisation repose sur une double problématique : améliorer d'une part les stratégies d'évaluation des greffons marginaux et d'autre part réduire les facteurs d'agression vis-à-vis desquels un greffon marginal est plus sensible qu'un greffon optimal. Elle pose également la question de la pertinence des moyens de conservation actuellement disponibles.

### ***Sélection du donneur***

La plupart des scores utilisés pour définir les donneurs marginaux négligent les critères histologiques de l'organe transplanté tels qu'ils sont susceptibles d'être évalués par une évaluation préimplantatoire. Un score histologique simple (Remuzzi et coll., 2006) a été proposé et analyse trois compartiments (glomérulaire, tubulo-interstitiel et vasculaire) pour prédire la survie du greffon. L'étude de Remuzzi montre une meilleure survie à 36 mois des patients dont le greffon a été sélectionné à l'aide de biopsie mais des inconnues subsistent néanmoins quant à l'utilisation pratique de cette méthode : consensus sur le type de score à utiliser, problème logistique d'une analyse histologique d'urgence...

### ***Sélection du receveur***

Les reins provenant de donneurs marginaux présentent des lésions chroniques en particulier glomérulaires et tubulo-interstitielles susceptibles de réduire les performances du greffon. Il a donc été logiquement suggéré de proposer les greffons de donneurs âgés à des receveurs ayant de faibles besoins métaboliques (Cecka, 1999 ; Bodingbauer et coll., 2006). Une telle stratégie est d'autant plus justifiée que des résultats récents ont suggéré que les greffons provenant de donneurs âgés sont susceptibles d'induire une réponse allo-immune plus importante (Reutzel-Selke et coll., 2007). Il est néanmoins important de noter que les besoins métaboliques d'un receveur conditionnent davantage le succès de la greffe que l'âge et que des critères tels que l'appariement des surfaces corporelles entre donneur et receveur ont intérêt à être pris en compte pour éviter la survenue de lésions précoces d'hyperfiltration (Moreso et coll., 1998).

### ***Immunosuppression***

Les lésions histologiques présentes sur les greffons de donneurs marginaux sont susceptibles d'augmenter la sensibilité de ces derniers à la toxicité rénale des anticalcineurines (Suarez et coll., 1999). Une prévention de cette néphrotoxicité implique donc l'utilisation de protocoles d'immunosuppression sans utilisation ou avec une réduction ou un arrêt précoce de ce type d'immunosuppresseurs. Les résultats de ces protocoles sont présentés dans le chapitre consacré à l'immunosuppression. De manière plus spécifique, des protocoles d'immunosuppression sans anticalcineurines ont été utilisés chez le receveur bénéficiant d'une bigreffe de reins marginaux avec des résultats

montrant alternativement un avantage clair (Shaffer et coll., 2003 ; Furian et coll., 2007) ou une absence de bénéfice (Cruzado et coll., 2007) par rapport aux protocoles conventionnels. De nouveaux protocoles utilisant les agents inhibiteurs de la voie mTOR (sirolimus et everolimus) ou les agents bloquant la co-stimulation (belatacept) sont actuellement en cours d'études chez les patients transplantés avec un rein provenant d'un donneur marginal.

### **Préservation du greffon marginal**

Les greffons provenant de donneurs marginaux sont plus sensibles aux effets des lésions d'ischémie/reperfusion que les greffons provenant de reins considérés comme optimaux. Ceci est bien démontré par les résultats de l'ensemble des études qui mettent clairement en évidence une incidence accrue des reprises retardées de fonction de ce type de greffons (Shoskes et coll., 1998 ; Ojo et coll., 2001 ; Rosengard et coll., 2002).

Réduire les temps d'ischémie froide et optimiser les conditions de préservation d'un greffon marginal sont des objectifs primordiaux pour réduire les conséquences des lésions liées aux phénomènes d'ischémie et de reperfusion. Une réduction significative des temps d'ischémie est à la base du projet « *Eurotransplant senior program* » qui propose les greffons de donneurs âgés de plus de 65 ans à des receveurs eux-mêmes âgés de plus de 65 ans avec pour objectif de limiter la durée d'ischémie froide à environ 12 h. Un tel programme a permis une augmentation de 79 à 86 % de la survie des greffons à 1 an. Un autre progrès également significatif est lié à la possibilité récente de perfuser les reins avec une machine à perfusion pulsatile qui améliore les conditions de conservation de l'organe (Penfield et coll., 1999). Ces études ont montré que l'utilisation de la machine permettait de réduire le retard de reprise de fonction avec vraisemblablement un effet sur la survie du greffon. D'autres stratégies utilisent des agents protecteurs dans le but de protéger des lésions de reperfusion, comme les antioxydants de type superoxyde dismutase (Burdick et coll., 1997) ou les antagonistes des récepteurs du PAF (*Platelet Activating Factor*) (Suarez et coll., 1999).

### **Bigreffe**

La transplantation de deux greffons marginaux provenant du même donneur à un même receveur est une approche particulièrement intéressante. L'augmentation de la masse néphronique ainsi transplantée permet de compenser les performances jugées médiocres d'un greffon et qui n'aurait pas été proposé aux équipes de transplantation en simple greffe.

Les premiers résultats de bigreffe (Lu et coll., 1999 ; Andres et coll., 2000) sont encourageants avec une diminution de l'incidence de reprise retardée de fonction rénale, une meilleure fonction rénale et une meilleure survie du greffon par rapport aux donneurs du même âge avec simple greffe (Andres et



coll., 2000). Des résultats à plus long terme confirment la valeur de cette stratégie mais avec une forte incidence de non reprise de fonction rénale primaire (Tan et coll., 2004). Dans une étude rétrospective, l'UNOS a comparé 403 doubles greffes (âge moyen du donneur de 60,8 ans) avec 11 033 simples greffes. Le devenir est le même que les simple greffes à partir de donneurs de plus de 55 ans (Tan et coll., 2004).

Il reste cependant à définir les critères justifiant une simple ou une double greffe pour comparer les bénéfices et effets secondaires de chaque stratégie. Remuzzi et coll. (1999), dans une étude prospective, ont comparé l'intérêt de critères cliniques (âge du donneur supérieur à 60 ans, diabète ou HTA chez le donneur, protéinurie supérieure à 3 g/24 h) ou de critères histologiques pour définir la meilleure stratégie d'utilisation d'un greffon marginal (simple greffe, bigreffe ou refus). La survie des greffons en cas de double greffe après évaluation histologique était équivalente à la survie des greffons en cas de simple greffe avec donneurs plus jeunes. Les critères histologiques semblent donc être plus appropriés que les critères cliniques et pourraient être plus largement utilisés pour définir l'indication de greffe (simple ou bigreffe).

En résumé, l'utilisation de greffons provenant de donneurs marginaux répond donc à un besoin et offre une source aujourd'hui incontournable de greffons. L'optimisation de la prise en charge de tels donneurs implique évidemment la mise en place d'une logistique et d'axes de recherche spécifiques. Ils ont pour objectifs d'améliorer les conditions de préservation en menant des politiques de réduction systématique des temps d'ischémie froide, en diffusant l'utilisation des machines de perfusion pour l'évaluation et l'amélioration des performances de l'organe transplanté, en précisant la place de l'histologie pour l'indication des types de greffe (simple ou bigreffe) et bien évidemment en développant des protocoles d'immunosuppression adaptés aux receveurs de ce type de greffon, en partenariat avec l'industrie. Une évaluation de l'alloréactivité est également indispensable pour préciser le risque immunologique d'un patient receveur d'un greffon marginal.

## **Donneurs vivants**

Marginale en France jusqu'à la révision des lois de bioéthique (août 2004), la transplantation réalisée à partir de donneurs vivants (TDV) connaît en France un développement significatif depuis cette période, en particulier par la transplantation à partir de donneurs génétiquement non apparentés mais liés affectivement. Ces donneurs sont déjà utilisés dans d'autres pays, en particulier aux États-Unis où leur profil a considérablement changé depuis la publication de Terasaki et coll. en 1995, rapportant les excellents résultats de la transplantation entre conjoints. C'est ce type de TDV et plus encore

les transplantations réalisées à partir d'un donneur vivant non apparenté autre que le conjoint qui ont le plus progressé ces dernières années. Elles représentaient respectivement, dans le registre UNOS, 11,6 et 20,9 % du nombre total des TDV nord-américaines en 2004. Dans la même période, le pourcentage des TDV à partir des donneurs classiques a diminué de façon particulièrement marquée pour les donneurs parentaux et les membres de la fratrie.

Les publications rapportant l'expérience de TDV de différents pays, qu'elles soient monocentriques ou proviennent de l'analyse d'un registre national, montrent toutes que la survie du greffon rénal issu d'un donneur vivant est significativement meilleure que celle du greffon de donneur décédé. En France, la survie du greffon issu d'un donneur vivant est de 90 % à cinq ans et de 80 % à dix ans, *versus* respectivement 80 et 63 % pour la transplantation à partir d'un donneur décédé (rapport 2006 de l'Agence de la biomédecine). Les données 2007 du registre nord-américain UNOS sont elles aussi très en faveur de la TDV : 97,3 % de survie de greffon à un an et 80,2 % à cinq ans *versus* respectivement 90 et 67,5 % pour les transplantations d'origine cadavérique. Par ailleurs, sur une série de 2 500 TDV réalisées de 1960 à nos jours, l'équipe de Minneapolis rapporte une meilleure survie du greffon rénal, qui persiste après exclusion des décès, ainsi qu'une survie du patient significativement supérieure à celle des greffes de donneur décédé (Matas et coll., 2001). La survie du greffon progresse régulièrement à chaque décennie, passant de 50 % à huit ans chez les patients transplantés dans les années 1960, à 80 % pour les greffes effectuées après 1990. La TDV à partir d'un membre de la fratrie HLA-identique est toujours celle qui donne les meilleurs résultats et la différence dans la survie du greffon est statistiquement significative par rapport aux autres donneurs vivants (Matas et coll., 2001). Il n'existe, en revanche, aucune différence significative entre les TDV réalisées à partir de ces autres donneurs (donneur parental, de la fratrie non HLA-identique, conjoint, donneur non apparenté autre) qui ont toutes une survie significativement supérieure à celle des greffes de donneur décédé. Terasaki et coll. (1995) ont montré dans la première publication de l'UNOS sur les résultats de la transplantation entre conjoints, que lorsqu'on analyse la survie du greffon en fonction des principaux paramètres qui la déterminent, compatibilité HLA et démarrage du greffon, la courbe de survie à trois ans est superposable à celle de la meilleure des transplantations cadavériques, c'est-à-dire où il n'existe aucune incompatibilité HLA et où le démarrage de la diurèse est immédiate (Terasaki et coll., 1995). Les raisons qui expliquent de tels résultats sont multiples.

### Qualité du greffon

Le donneur vivant est une personne en bonne santé, ayant une fonction rénale normale, ne présentant aucun marqueur de néphropathie, indemne

de toute maladie cardiovasculaire. À l'inverse, le donneur décédé est de plus en plus souvent un donneur âgé (en 2005, 26,9 % des donneurs avaient plus de 60 ans), ayant les caractéristiques du donneur marginal (décédé d'un accident vasculaire cérébral (AVC) et/ou présentant une HTA, une cardiopathie, une maladie vasculaire périphérique, une créatininémie supérieure ou égale à 150 µmol/l). Les organes des donneurs marginaux sont généralement attribués à des receveurs âgés, mais la pénurie actuelle fait qu'il devient courant que des receveurs de moins de 50 ans en deviennent aussi destinataires. Le registre de l'UNOS a analysé la survie du greffon en fonction de la « qualité » du donneur, marginal, non marginal ou vivant et montre que les meilleurs résultats sont obtenus par la TDV<sup>15</sup>.

### **Absence de mort encéphalique**

L'un des avantages majeurs de la transplantation rénale à partir d'un donneur vivant est d'éviter les conséquences pour le greffon de la mort encéphalique. En effet, la mort encéphalique s'accompagne d'une défaillance hémodynamique aiguë multifactorielle dont les mécanismes sont dominés par une réaction inflammatoire liée aux phénomènes d'ischémie/reperfusion faisant suite à l'orage neurovégétatif et cytokinique et à un diabète insipide presque constant. Le diabète insipide est à l'origine d'une diurèse hypotonique, massive, inappropriée. Il peut aboutir, outre l'hypovolémie, à des désordres métaboliques sévères, tels que l'hyper-osmolarité, l'hypernatrémie, l'hypokaliémie, l'hypermagnésémie, l'hypophosphorémie, l'hypocalcémie.

Le passage en mort encéphalique a été décrit comme un orage hormonal et cytokinique, entraînant à la fois une ischémie tissulaire et le développement d'une réaction inflammatoire au niveau des organes ischémiques. Le greffon rénal est également soumis aux lésions induites par sa conservation et sa reperfusion, où intervient la durée de l'ischémie froide. Cet état inflammatoire va retarder le démarrage du greffon, créer un microenvironnement favorable à l'éclosion du rejet aigu et laisser des lésions de fibrose cicatricielle. Les effets délétères de l'ischémie froide prolongée et du retard au démarrage du greffon sur sa survie à long terme sont bien connus en transplantation cadavérique.

### **Caractère programmé de la greffe**

Une chirurgie programmée a des avantages certains chez des patients âgés et/ou présentant des facteurs de risque anesthésiques, qu'il est possible de mieux préparer à l'intervention.

## Bénéfice d'une greffe préemptive

Dans le contexte de pénurie d'organes actuelle, il est rare que les transplantations réalisées sans dialyse préalable ne soient pas des TDV.

Des publications émanant de l'UNOS ont été les premières à signaler que les patients recevant un organe de donneur cadavérique sans passer par la dialyse avaient une survie du greffon significativement meilleure que celle des patients transplantés après dialyse (respectivement 78 et 58 % à quatre ans, 63 et 29 % à dix ans) (Meier-Kriesche et Kaplan, 2002). La survie du greffon était d'autant plus basse que la dialyse avait été longue. Une étude de l'Agence de la biomédecine, comparant la survie du greffon de patients hémodialysés, en dialyse péritonéale ou non dialysés avant la greffe (transplantation cadavérique), arrive aux mêmes conclusions (Chalem et coll., 2005). Le paramètre absence ou durée de la dialyse avant la greffe est souvent cité parmi les facteurs déterminant la survie du greffon. Ce paramètre a été spécifiquement étudié chez des receveurs d'une TDV (Mange et coll., 2001) pour lesquels le risque de perte du greffon, si la TDV est réalisée sans période de dialyse préalable, est réduit de 52 % dans la première année postgreffe, puis de 82 à 86 % dans les années suivantes. Le risque de rejet aigu augmenterait de façon linéaire avec la durée de la dialyse.

## Compatibilité HLA

Il est important de répéter que, hormis la TDV HLA-identique, les TDV issues des autres types de donneurs vivants aboutissent toutes à des résultats similaires, ce qui signifie que la compatibilité HLA ne joue pas de rôle significatif. Plus encore, dans les TDV entre conjoints ou issus de donneurs vivants non apparentés, il n'existe aucune différence dans la survie du greffon ni dans la demie-vie des greffons si les patients sont analysés selon la compatibilité HLA, alors que cette compatibilité a un rôle majeur dans les greffes de donneur décédé (Terasaki et coll., 1995). Là encore, les receveurs d'un greffon de donneur vivant ayant cinq ou six incompatibilités avec leur donneur ont une survie du greffon et une demi-vie du greffon similaire à celle des receveurs d'un greffon cadavérique HLA-identique (Terasaki et coll., 1995).

Un certain nombre d'études signalent en revanche que le nombre de rejets aigus augmente avec le nombre d'incompatibilités HLA (Pena de la Vega et coll., 2004).

## Rejet aigu

Comme en transplantation à partir de donneur cadavérique, le rejet aigu en TDV est retrouvé, dans la grande majorité des publications, comme influençant

très significativement la survie du greffon à long terme mais pas à court terme (Fuller et coll., 2004). Une étude japonaise, ayant analysé 1 100 TDV, a chiffré la différence de survie du greffon à 20 % à dix ans entre patients n'ayant pas présenté d'épisode de rejet aigu et ceux ayant présenté au moins un épisode (Toma et coll., 2001). Dans cette étude comme dans la plupart des études nord-américaines, la fréquence du rejet aigu en TDV est au mieux superposable (14 % des patients) et souvent plus élevée (30 à 50 %) que celle que nous connaissons en France en transplantation cadavérique (< 15 %). L'âge moins élevé des donneurs et des receveurs, l'absence de mort encéphalique et la faible incidence des reprises retardées de fonction du greffon expliquent néanmoins pourquoi les survies des greffons restent meilleures que celles observées à partir de donneur cadavérique.

### **Reprise retardée de fonction**

Le retard au démarrage du greffon est rare dans les TDV (< 10 %) (Gjertson et Cecka, 2000). Cependant, lorsqu'il est présent, il constitue un déterminant significatif de la survie à un an du greffon. L'étude de Minneapolis précédemment citée en fait même le seul et unique facteur de la survie du greffon à un an (Matas et coll., 2001).

### **Immunisation anti-HLA pré-greffe**

Plusieurs études ont retrouvé un effet de l'immunisation anti-HLA pré-greffe (taux d'anticorps supérieur à 30 %) (Bunnapradist et coll., 2003), du nombre de grossesses et de transfusions sanguines sur le devenir de la greffe (Foss et coll., 1998). C'est le cas particulièrement dans le contexte de greffes entre époux et de donneur non apparenté. Suivant les études, le sexe féminin du receveur a ou non une influence défavorable significative sur le devenir de la greffe, ce qui peut être expliqué par la présence d'une immunisation ignorée de la receveuse vis-à-vis des antigènes HLA de son donneur, lorsqu'il s'agit de son conjoint ou d'un de ses enfants (Gjertson et Cecka, 2000). À l'heure actuelle, il peut être évité de transplanter dans cette situation où le risque de rejet vasculaire et de perte du greffon est grand, grâce aux nouvelles techniques très sensibles de recherche des anticorps anti-HLA et à la pratique du *crossmatch* (contrôle de compatibilité) lymphocytaire en cytométrie de flux, plus sensible que la lymphocytotoxicité classique. L'utilisation de ces tests est recommandée par l'Agence de la biomédecine.

### **Âge du donneur**

L'âge du donneur est un paramètre qui doit nous intéresser, car en autorisant le conjoint ou les grands-parents à être donneurs, la loi de bioéthique

nous donne l'occasion d'avoir une proposition de don de personnes âgées de 60-65 ans, voire plus. La littérature est unanime sur le fait que la survie du greffon est significativement diminuée lorsque le donneur est âgé de plus de 50 ans dans certaines études (Terasaki et coll., 1995), 55 ans, 60 ans ou 65 ans dans d'autres (Matas et coll., 2001 ; Toma et coll., 2001 ; Gill et coll., 2006). Cependant, la survie du greffon de donneur vivant âgé est toujours supérieure à celle du rein d'un donneur décédé de même âge (Terasaki et coll., 1995). Il a été montré que le débit de filtration glomérulaire du greffon d'un donneur vivant âgé ( $\geq 50$  ans) est inférieur à celui du greffon d'un donneur jeune ( $94 \pm 12$  versus  $108 \pm 17$  ml/min), mais que l'hypertrophie compensatrice après la néphrectomie est du même ordre dans les deux catégories d'âge (Pena de la Vega et coll., 2004). À 12 et 24 mois post-greffe, il existe une corrélation inverse entre le niveau du débit de filtration glomérulaire du receveur et l'âge du donneur (Pena de la Vega et coll., 2004).

### Âge du receveur

L'âge du receveur supérieur ou égal à 55 ans a été trouvé dans une analyse multivariée de l'UNOS comme un facteur indépendant de perte du greffon de donneur vivant (Delahousse et coll., 2008). Dans l'étude de Minneapolis (Matas et coll., 2001), les facteurs d'échec à long terme pour les patients ayant un greffon fonctionnel à un an post-greffe sont un tabagisme actif au moment de la transplantation et la présence d'une pathologie vasculaire avant la greffe. Il est intéressant de souligner que ces paramètres sont également ceux déterminant la survie du patient et du greffon chez les patients âgés recevant un greffon cadavérique. Il n'empêche que la TDV chez un receveur âgé est une option parfaitement valable, qui doit être envisagée comme chez les patients plus jeunes. Les données de l'UNOS vont dans ce sens : la survie du patient ayant reçu un transplant d'un donneur vivant est supérieure à celle des patients de même âge transplantés avec un rein de donneur décédé, qu'il soit marginal ou non. Ainsi, les patients de 50 à 64 ans recevant une TDV ont une survie supérieure à celle des patients de 35 à 49 ans recevant un rein marginal et superposable à celle des 35-49 ans recevant un rein non marginal.

La TDV est donc la transplantation qui donne les meilleurs résultats, toujours supérieurs à ceux de la transplantation à partir d'un donneur décédé, même lorsque celle-ci est la transplantation idéale et rare dans la pratique quotidienne, d'un greffon HLA-identique et dont le démarrage est immédiat. Ce constat est à replacer dans le contexte actuel de pénurie d'organes où les donneurs sont de plus en plus âgés et la qualité des greffons de plus en plus limite. Bénéficiaire d'une TDV signifie pour les patients une transplantation qui dure longtemps et dans de bonnes conditions de fonction rénale et la TDV devrait donc toujours être la première option envisagée. La TDV représente également une situation idéale pour les stratégies

d'immuno-intervention visant à induire une tolérance spécifique du donneur aux alloantigènes du donneur. L'évaluation à long terme du devenir des donneurs par la mise en place de registres nationaux est également impérative.

Concernant le donneur, et même s'il n'existe pas par définition de risque nul de morbi-mortalité dans la procédure de don, il ressort de la littérature que ce risque est extrêmement faible (Hourmant, 2008). La mortalité per- et péri-opératoire a été estimée à 0,03 % et le risque de complications graves, nécessitant ou ne nécessitant pas de reprise chirurgicale, entre 0,3 et 1 %. À long terme, la survie de ces donneurs, qui ont été sélectionnés sur des critères cliniques (absence d'hypertension artérielle, de diabète, de dyslipidémie...) est même supérieure à celle de la population générale de même âge. La fonction rénale post-don atteint 75 % de la fonction pré-don et dérive avec l'âge, mais guère plus, comme chez toute personne possédant ses deux reins. Même si des protéinuries significatives (> 1 gr/j) chez 3 % des donneurs et des cas d'insuffisance rénale terminale ont été rapportés, le risque rénal reste lui aussi très faible.

## **Donneurs vivants ABO incompatibles**

Jusqu'à présent, les donneurs candidats à une greffe de type TDV devaient être ABO compatibles avec le receveur, ce qui entraînait inéluctablement une réduction importante du nombre de transplantations réalisées en particulier pour les greffes entre individus non appariés génétiquement. Cependant, la transplantation à partir de donneurs ABO incompatibles est de pratique courante et ancienne dans d'autres pays, en particulier le Japon et les États-Unis.

Au Japon (Tanabe et coll., 1998 ; Aikawa et coll., 2004), les résultats à long terme ont été publiés récemment, dans un article comparant 441 cas de transplantations ABO incompatibles réalisées entre 1989 et 2001 à 1 055 cas de transplantations ABO compatibles réalisées à la même époque (Takahashi et coll., 2004). Ces 441 cas représentent 89 % de toutes les transplantations ABO incompatibles faites au Japon pendant cette période. Les survies des patients et des greffons n'étaient pas significativement différentes 9 ans après la greffe (84 et 89 % pour les patients ABO incompatibles et compatibles respectivement, 59 et 57 % pour les greffons), même s'il y avait une tendance à une survie du greffon à 1 an inférieure dans le groupe ABO incompatible. Ces résultats étaient obtenus avec un traitement immunosuppresseur relativement lourd comprenant notamment des échanges plasmatiques et une splénectomie systématique au moment de la transplantation. Malgré cela, les complications infectieuses ou tumorales n'étaient pas différentes de la population contrôle.

De même, un groupe belge a réalisé entre 1982 et 1989, 39 transplantations ABO-incompatibles avec d'excellents résultats, en pratiquant également une splénectomie du receveur (Squifflet et coll., 2004).

Du fait de la pénurie d'organes, de tels programmes de transplantations ABO incompatibles ont été lancés dans les 5 dernières années aux États-Unis. L'immunosuppression n'est pas différente de celle reçue par des sujets à haut risque en transplantation, à l'exception de la splénectomie initiale. Les résultats à moyen terme sont également comparables à ceux des transplantations ABO compatibles (Gloor et coll., 2003).

La nécessité de la splénectomie a été récemment remise en cause, notamment grâce à l'utilisation d'un nouvel agent immunosuppresseur ciblant de manière spécifique les populations lymphocytaires B : l'anticorps anti-CD20 (Rituximab). Ceci a permis d'obtenir dans la population traitée un excellent profil de tolérance et de bien cerner les effets secondaires de ce produit. L'utilisation de cet anticorps a conduit à la réalisation de transplantations ABO incompatibles sans splénectomie, avec des succès tout à fait comparables aux greffes avec splénectomie systématique (Gloor et coll., 2005). Un protocole national visant à évaluer les résultats de la greffe ABO incompatible avec donneur vivant est actuellement en cours en France.

## Prélèvement à cœur arrêté

Le prélèvement d'organes sur des donneurs à cœur arrêté n'est pas nouveau puisque historiquement, les premières greffes et notamment, la première greffe de cœur du professeur Barnard (Le Cap 1967) ont été faites à partir de donneurs de ce type. Entre 1970 et 1990, ce type de prélèvement est resté confiné à certaines équipes européennes ou à des pays n'ayant pas accès au prélèvement sur des sujets en état de mort encéphalique, comme le Japon. Les premiers résultats publiés montraient que les greffons rénaux issus de ce type de donneurs donnaient de moins bons résultats que ceux provenant de donneurs en état de mort encéphalique (Casavilla et coll., 1995 ; Balupuri et coll., 2000) avec notamment un plus grand nombre de non-fonction primaire et de reprise retardée de fonction des greffons. Ces résultats se sont nettement améliorés et de nombreux pays ont développé des programmes de prélèvement sur donneurs à cœur arrêté. Cette technique est donc à reconsidérer sous l'angle de la faisabilité, des résultats et de leurs conséquences éthiques et juridiques.

## Identification des donneurs potentiels

Il s'agit de sujets en arrêt cardiaque irréversible. Ces donneurs ont été classés en cinq catégories clairement identifiées (classification dite de Maastricht)



(tableau 11.I). En France, seules les catégories I, II et IV ont été retenues. La classification décrit des situations cliniques différentes. La catégorie III est de fait assimilable à un arrêt de soins et correspond aux donneurs à cœur arrêté dits « contrôlés ». Les catégories I et II posent le problème de l'ischémie chaude acceptable et le problème du moment du recueil auprès de la famille de la non opposition du donneur. Sur le plan du prélèvement, les catégories I et II sont plus délicates en termes d'organisation, puisqu'il s'agit de situations difficiles à contrôler (donneurs à cœur arrêté dits « non contrôlés ») et qui dépendent largement des conditions de prise en charge par les transports d'urgence (Sanchez-Fructuoso et coll., 2000).

**Tableau 11.I : Classification des donneurs à cœur arrêté (Van Raemdonck et coll., 2004)**

Catégories	Critères
I	Arrêt cardiaque constaté en dehors de tout secours médical ou paramédical et s'avérant immédiatement ou secondairement irréversible
II	Arrêt cardiaque survenu en présence de secours, dont la réanimation après massage cardiaque et respiration artificielle s'avère vouée à l'échec
III	Arrêt cardiaque irréversible survenu après arrêt programmé des soins
IV	Arrêt cardiaque irréversible survenant au cours d'un état de mort encéphalique primitive, pendant sa prise en charge en réanimation
V	Équivalent du groupe II, mais survenant en intra-hospitalier

En France, seuls les donneurs des catégories I, II et IV peuvent être prélevés.

### Devenir du greffon après greffe de rein de donneur à cœur arrêté

La non-fonction primaire ou absence durable et définitive de fonction du greffon est en rapport avec des lésions histologiques de nécrose corticale, stade ultime et non réversible de la nécrose tubulaire aiguë et principalement liée à la durée d'ischémie chaude (> 30 min). D'après les données récentes de la littérature, son incidence est de l'ordre de 4 à 6 % pour les donneurs à cœur arrêté et s'avère désormais comparable à celle observée pour les donneurs à cœur battant (Cho et coll., 1998 ; Metcalfe et coll., 2001 ; Weber et coll., 2002 ; Cooper et coll., 2004 ; Sanchez-Fructuoso et coll., 2006). Le taux de reprise retardée de fonction du greffon, définie par la nécessité d'au moins une séance de dialyse dans la première semaine de la greffe, est habituellement un facteur prédictif de la survie des greffons rénaux indépendamment d'altérations (Shoske et Cecka, 1998). Son incidence reste significativement plus importante, de 50 à 100 %, en cas de donneur prélevé à cœur arrêté, *versus* 20 à 60 % en cas de prélèvement sur donneurs à cœur battant. Du point de vue histologique, sa survenue correspond principalement à des lésions de nécrose tubulaire aiguë, comme l'ont démontré

Gok et ses collaborateurs sur des biopsies faites au moment du déclampage de l'artère du greffon (Gok et coll., 2002). Les auteurs retrouvent la présence plus fréquente dans le groupe « donneurs à cœur arrêté » que dans le groupe « donneurs à cœur battant » de lésions de nécrose tubulaire aiguë (96,8 *versus* 61,1 %,  $p < 0,005$ ) et de débris nécrotiques tubulaires (83,3 *versus* 11,1 %,  $p < 0,0001$ ). Cette différence significative est due principalement aux effets délétères de l'ischémie chaude, indépendamment d'autres facteurs bien identifiés en cas de donneurs en mort encéphalique comme la durée d'ischémie froide, l'âge ou le terrain vasculaire du donneur ou les lésions dites d'ischémie/reperfusion lors du déclampage. En deuxième lieu, plusieurs groupes (Brook et coll., 2003 ; Gagandeep et coll., 2006 ; Sanchez-Fructuoso et coll., 2006) ont comparé la survie des greffons rénaux ayant présenté un retard de fonction et constatent que les greffons du groupe « donneurs à cœur arrêté » ont une meilleure survie que ceux issus de donneurs en mort encéphalique. Dans leur étude, Brook et coll. (2003) décrivent une survie du greffon à trois ans de 84 % *versus* 73 % ( $p < 0,05$ ) et à six ans de 84 % *versus* 62 % ( $p < 0,05$ ). Parmi les hypothèses émises pour expliquer le meilleur pronostic concernant le retard de fonction du greffon, en cas de donneurs à cœur arrêté, Takada et coll. (1998) évoquent les effets à long terme sur le greffon des profondes perturbations hémodynamiques, inflammatoires et métaboliques secondaires à la libération massive de cytokines pro-inflammatoires, lors du passage en mort encéphalique (Takada et coll., 1998). Cet « orage cytokinique » est responsable de lésions considérées potentiellement tout aussi sévères que celles engendrées par l'ischémie chaude. Il faut rester vigilant sur les facteurs de confusion potentiels dans la comparaison des deux populations, les greffons issus de donneurs à cœur arrêté sont plus jeunes, ont une ischémie froide plus courte et reçoivent plus souvent une induction par des agents lymphodépétants permettant une introduction différée des anticalcineurines.

Toutes les publications font état de taux de survie des greffons à un, cinq et dix ans identiques et de fonctions des greffons comparables (Metcalf et coll., 2001 ; Gok et coll., 2002 ; Weber et coll., 2002 ; Chapman et coll., 2006 ; Sanchez-Fructuoso et coll., 2006), que le donneur décédé soit en mort encéphalique ou à cœur arrêté. Gagandeep et coll. (2006), dans leur analyse du registre UNOS, ont comparé le devenir des 75 875 greffons prélevés sur donneurs en mort encéphalique et des 2 136 greffons prélevés sur donneurs à cœur arrêté aux États-Unis entre janvier 1995 et décembre 2004 (Gagandeep et coll., 2006). Les auteurs concluent que l'utilisation d'un greffon rénal prélevé sur un donneur à cœur arrêté n'est pas un facteur de risque de perte du greffon après ajustement sur les facteurs de confusion habituels comme l'âge du receveur, le taux d'anticorps anti-HLA, la durée en liste d'attente, l'âge du donneur ou encore l'ischémie froide. Ces bons résultats s'expliquent par une meilleure sélection des donneurs et des receveurs, le respect des délais d'ischémie chaude et froide et l'apparition d'innovations thérapeutiques importantes dans la prise en charge du donneur et de ses

organes (Gagandeep et coll., 2006). La sélection des donneurs est une étape capitale pour le succès de la greffe à partir d'un donneur à cœur arrêté. Il s'agit de limiter l'accumulation de facteurs de risque, désormais bien identifiés, tels que la présence de lésions de glomérulosclérose et de fibrose, mais aussi d'antécédents cardiovasculaires dont la fréquence augmente proportionnellement avec l'âge chez le donneur. Pour répondre à ces exigences, le protocole médical rédigé par le comité de pilotage sous l'égide de l'Agence de la biomédecine exclut les donneurs de plus de 55 ans, présentant des facteurs de risque vasculaires et décédés des suites d'un AVC.

### **Durée d'ischémie froide et chaude : un problème majeur**

Dans le cas des donneurs à cœur arrêté dits « non contrôlés » (hors catégories III et V de Maastricht), il est souvent difficile de respecter les délais établis d'ischémie chaude. Les lésions entraînées et corrélées au temps d'ischémie chaude secondaire à l'asystolie sont pourtant un élément limitant pour l'utilisation de greffons rénaux issus de donneurs à cœur arrêté avec une survie à un an des greffons rénaux qui passe de 82-85 % à 66 % quand l'ischémie chaude dépasse 30 min (Teraoka et coll., 2004). Le délai d'ischémie chaude varie d'une étude à l'autre, en moyenne entre 30 et 45 min pour les donneurs dits non contrôlés, mais il est probable que son impact dépende également de la présence d'autres facteurs de risque liés au donneur comme l'âge ou les antécédents cardiovasculaires. Au même titre, la durée d'ischémie froide représente un facteur pronostique et logistique majeur. Gonzalez-Segura et coll. (1998) ont démontré que pour une ischémie chaude fixe à 45 min, la survie des greffons à cinq ans est nettement altérée pour une ischémie froide supérieure à 22 heures (Gonzales-Segura et coll., 1998). Dans l'objectif de ne pas perdre du temps en régulation de l'attribution des organes et risquer d'allonger l'ischémie froide, les greffons prélevés sur donneurs à cœur arrêté sont exclus de la proposition aux catégories prioritaires et proposés d'abord à l'échelon local. À partir des expériences internationales, un certain nombre de recommandations sur les délais d'ischémie tolérables en regard du bénéfice/risque attendu sur la fonction du greffon ont été émises (Antoine et coll., 2008) :

- la durée d'asystolie complète sans massage cardiaque et ventilation inférieure à 30 min ;
- le temps entre le début de l'arrêt cardiaque, son traitement, la « période d'observation », le transfert avec reprise des manœuvres et la mise en place des moyens de préservation des organes inférieur à 120 min (150 min en cas d'utilisation d'une planche à masser, conseillée pour optimiser la qualité du massage cardiaque) ;
- le temps entre le début des manœuvres de préservation des organes et le prélèvement inférieur à 180 min ;
- la réalisation de la greffe en urgence à toute heure du jour ou de la nuit pour obtenir une durée d'ischémie froide inférieure à 18 heures.

## Sélection du receveur

Les critères de sélection des receveurs sont fondés sur la réduction des facteurs de risque connus en transplantation rénale, comme l'âge, l'immunisation anti-HLA ou la présence d'une artériopathie.

Le choix d'un patient non immunisé, en attente d'une première greffe a pour but de cibler une population à moindre risque de rejet, de permettre de ne pas attendre le résultat du *crossmatch* et ainsi, de diminuer potentiellement la durée d'ischémie froide. Le critère d'âge a été posé arbitrairement à cette étape initiale du protocole à 60 ans, l'âge du receveur apparaissant dans certaines études comme un facteur de mauvais pronostic pour la survie du greffon (Teraoka et coll., 2004). Les receveurs âgés bénéficient déjà d'une amélioration d'accès à la greffe par l'adéquation à l'âge appliqué dans le score d'attribution des greffons rénaux et par le programme national « Bigreffe ». De plus, le protocole prévoit une induction par agents lympho-déplétants permettant l'introduction différée d'anticalcineurine, stratégie immunosuppressive discutée chez le receveur âgé.

## Innovations thérapeutiques décisives dans l'amélioration des résultats des greffes à partir de donneur à cœur arrêté

La technique de préservation des organes sur un donneur à cœur arrêté peut être réalisée soit par voie inguinale ou fémorale en service de réanimation, soit par voie aortique au bloc opératoire. L'utilisation de la sonde de Gillot est la technique de référence et correspond à la mise en place, par artériotomie, d'un cathéter à double ballonnet triple lumière, après la déclaration du décès et sous massage cardiaque. Le refroidissement des reins est assuré par la perfusion d'un liquide de conservation de quatrième génération.

Depuis peu, la circulation extracorporelle (CEC) apparaît comme une alternative potentielle à la perfusion et au refroidissement des reins par la sonde de Gillot. Cette technique permet la recirculation dans tout le corps du sang du sujet décédé, oxygéné régulièrement et maintenu à une température choisie. L'abord chirurgical pour la canulation des vaisseaux est sensiblement le même que pour une sonde de Gillot, mais les téguments restent colorés grâce à la circulation sanguine. La CEC peut être maintenue le temps nécessaire pour recueillir le témoignage des proches, en sachant que certaines équipes utilisent une CEC hypothermique et partielle (ballonnet d'occlusion aortique sous diaphragmatique) limitant le délai imparti à environ trois heures (Valero et coll., 2000 ; Sanchez-Fructuoso et coll., 2006). Valero et coll. (2000) ont comparé le taux de non-fonction primaire, de non-reprise immédiate de fonction et la survie à un et cinq ans des greffons rénaux préservés selon trois techniques de préservation : perfusion et refroidissement par sonde de Gillot, CEC hypothermique (15–20°C) et CEC normothermique (37°C). Les auteurs constatent une baisse significative des

taux de non-fonction primaire et de retard de reprise de fonction du greffon pour les reins perfusés en CEC normothermique en comparaison des deux autres techniques, alors que le délai d'ischémie chaude est significativement plus court en cas de préservation par sonde de Gillot. Ces résultats sont encourageants, mais il s'agit d'une étude non randomisée avec des petits effectifs pour les groupes sous CEC et l'apport de la CEC nécessite d'être étudié sur une plus grande cohorte.

Enfin, au vu des résultats récents de la littérature, l'utilisation d'une machine à perfusion a été exigée comme mode de conservation des greffons rénaux. Ces machines assurent une perfusion des reins de façon pulsatile ou continue avec 500 ml d'une solution réfrigérée adaptée maintenue entre 5 et 10°C en circuit clos. Ces machines existent depuis plusieurs années, mais se sont nettement perfectionnées dans les modalités de canulation de l'artère, dans le contrôle de la pression de perfusion des reins et surtout dans les possibilités d'y associer des tests de viabilité des greffons. Selon Balupuri et coll. (2000), cette technique de préservation constitue un facteur indépendant de diminution du retard de fonction du greffon (Balupuri et coll., 2000) grâce à la diminution de la vasoconstriction intrarénale, l'amélioration de la perfusion du cortex rénal, l'expulsion de microthrombi du cortex rénal et de la microcirculation médullaire, le maintien du pH intracellulaire, la diminution de l'œdème tissulaire, l'apport de substrats métaboliques et l'élimination des produits du catabolisme (Gok et coll., 2002). Dans deux publications récentes exploitant les données de deux registres américains, l'UNOS (Matsuoka et coll., 2006) et le SRTR (*Scientific Registry of Transplant Recipients*) (Schold et coll., 2005), focalisées sur les donneurs dits « marginaux » comprenant des donneurs à cœur arrêté, l'utilisation de la machine à perfusion permet de réduire significativement le taux de retard de fonction du greffon rénal. La survie du greffon reste comparable, malgré la présence plus importante de facteurs de risque d'altération de la survie du greffon dans le sous-groupe des greffons « perfusés ».

**En conclusion**, le prélèvement sur cœur arrêté représente une source considérable de greffons supplémentaires avec des résultats globaux satisfaisants dans la mesure où l'infrastructure technique et logistique est optimale. Il est donc clair que ce type de prélèvement doit être encouragé dans le futur. Les moyens techniques (CEC, machines de perfusion) et logistiques indispensables doivent être mis à la disposition des différentes équipes de transplantation pour le développement de cette pratique. L'évaluation des résultats sur le plan national est également indispensable.

Il existe donc de nombreuses stratégies pour élargir le nombre de greffons. Les résultats rapportés par des équipes internationales indiquent clairement que certaines de ces stratégies comme la greffe ABO incompatible, le prélèvement à cœur arrêté ou le donneur vivant ont tout intérêt à se développer

rapidement en France. Leur développement implique une évaluation rigoureuse des résultats obtenus notamment par la conduite d'une recherche clinique concertée.

## BIBLIOGRAPHIE

AIKAWA A, OHARA T, ARAI K, HADANO T, KAWAMURA T, et coll. Clinical outcome and accommodation in ABO incompatible kidney transplantation. *Clin Transpl* 2004, **23** : 135-142

ANDRES A, MORALES JM, HERRERO JC, PRAGA M, MORALES E, et coll. Double versus single renal allografts from aged donors. *Transplantation* 2000, **69** : 2060-2066

ANTOINE C, BRUN F, TENAILLON A, LOTY B. Organ procurement and transplantation from non-heart-beating donors. *Nephrol Ther* 2008, **4** : 5-14. Epub 2007 Oct 24

BALUPURI S, VUCKLEY P, SNOWDEN C, MUSTAFA M, SEN B, et coll. The trouble with kidneys derived from the non-heartbeating donor: a single center 10-year experience. *Transplantation* 2000, **69** : 842-846

BODINGBAUER M, PAKRAH B, STEININGER R, BERLAKOVICH G, ROCKENSCHAUB S, et coll. The advantage of allocating kidneys from old cadaveric donors to old recipients: a single-center experience. *Clin Transplant* 2006, **20** : 471-475

BROOK NR, WHITE SA, WALLER JR, VEITCH PS, NICHOLSON ML. Non-heart beating donor kidneys with delayed graft function have superior graft survival compared with conventional heart-beating donor kidneys that develop delayed graft function. *Am J Transplant* 2003, **3** : 614-618

BUNNAPRADIST S, DASWANI A, TAKEMOTO S. Graft survival following living-donor renal transplantation: a comparison of tacrolimus and cyclosporine microemulsion with mycophenolate mofetil and steroids. *Transplantation* 2003, **76** : 10-15

BURDICK JF, ROSENDALE JD, MCBRIDE MA, KAUFFMAN HM, BENNETT LE. National impact of pulsatile perfusion on cadaveric kidney transplantation. *Transplantation* 1997, **64** : 1730-1733

CASAVILLA A, RAMIREZ C, SHAPIRO R, NGHIEM D, MIRACLE K, et coll. Experience with liver and kidney allografts from non-heart-beating donors. *Transplantation* 1995, **59** : 197-203

CECKA JM. Results of more than 1000 recent living-unrelated donor transplants in the United States. *Transplant Proc* 1999, **31** : 234

CHALEM Y, RYCKELYNCK JP, TUPPIN P, VERGER C, CHAUVE S, GLOTZ D. Access to and outcome of renal transplantation according to treatment modality of end-stage renal disease in France. *Kidney Int* 2005, **67** : 1454-1459

CHAPMAN J, BOCK A, DUSSOL B, FRITSCHÉ L, KLIEM V, et coll. Follow-up after renal transplantation with organs from donors after cardiac death. *Transpl Int* 2006, **19** : 715-719

CHERTOW GM, MILFORD EL, MACKENZIE HS, BRENNER BM. Antigen-independent determinants of cadaveric kidney transplant failure. *JAMA* 1996, **276** : 1732

CHO YW, TERASAKI PI, CECKA JM, GJERTSON DW. The new transplantation of kidneys from donors whose hearts have stopped beating. *N Engl J Med* 1998, **338** : 221-225

COOPER JT, CHIN LT, KRIEGER NR. Donation after cardiac death: the University of Wisconsin experience with renal transplantation. *Am J Transplant* 2004, **4** : 1490-1494

CRUZADO JM, BESTARD O, RIERA L, TORRAS J, GIL-VERNET S, et coll. Immunosuppression for dual kidney transplantation with marginal organs: the old is better yet. *Am J Transplant* 2007, **4** : 639-644

DELAHOUSSE M, CHAIGNON M, MESNARD L, BOUTOUYRIE P, SAFAR ME, et coll. Aortic stiffness of kidney transplant recipients correlates with donor age. *J Am Soc Nephrol* 2008, **19** : 798-805

EGGERS PW. Effect of transplantation on the Medicare end-stage renal disease program. *N Engl J Med* 1988, **318** : 223-229

FOSS A, LEIVESTAD T, BREKKE I, FAUCHALD P, BENTDAL O, et coll. Unrelated living donors in 141 kidney transplantations. *Transplantation* 1998, **66** : 49-52

FULLER FT, FENG S, BRENNAN TV, TOMLANOVICH S, BOSTROM A, FREIS CE. Increased rejection in living unrelated versus living related kidney transplants does not affect short-term function and graft survival. *Transplantation* 2004, **78** : 1030-1035

FURIAN L, BALDAN N, MARGANI L, EKSER B, SILVESTRE B, et coll. Calcineurin inhibitor-free immunosuppression in dual kidney transplantation from elderly donors. *Clin Transplant* 2007, **21** : 57-62

GAGANDEEP S, MATSUOKA L, MATEO R, CHO YW, GENYK Y, et coll. Expanding the donor kidney pool: utility of renal allografts procured in a setting of uncontrolled cardiac death. *Am J Transplant* 2006, **6** : 1682-1688

GJERTSON DW, CECKA JM. Living unrelated donor kidney transplantation. *Kidney Int* 2000, **55** : 491-499

GILL JS, GILL J, ROSE C, ZALUNARDO N, LANDSBERG D. The older living kidney donor: Part of the solution to the organ shortage. *Transplantation* 2006, **82** : 1662-1666

GLOOR JM, LAGER DJ, MOORE SB, PINEDA AA, FIDLER ME, et coll. ABO-incompatible kidney transplantation using both A2 and non-A2 living donors. *Transplantation* 2003, **75** : 971-977

GLOOR JM, LAGER DJ, FIDLER ME, GRANDE JP, MOORE SB, et coll. A Comparison of splenectomy versus intensive posttransplant antidonor blood group antibody monitoring without splenectomy in ABO-incompatible kidney transplantation. *Transplantation* 2005, **80** : 1572-1577

GOK MA, BUCKLEY PE, SHENTON BK, BALUPURI S, EL-SHEIKH MA, et coll. Longterm renal function in kidneys from non-heart-beating donors: a single-center experience. *Transplantation* 2002, **74** : 664-669

GONZALEZ-SEGURA C, CASTELAO AM, TORRAS J, MORESO F, RIERA L, et coll. A good alternative to reduce the kidney shortage: kidneys from nonheartbeating donors. *Transplantation* 1998, **6** : 1465-1470

GRIDELLI B, REMUZZI G. Strategies for making more organs available for transplantation. *N Engl J Med* 2000, **343** : 404-410

HARIHARAN S, MCBRIDE MA, BENNETT LE, COHEN EP. Risk factors for renal allograft survival from older cadaver donors. *Transplantation* 1997, **64** : 1748-1754

HOURMANT M. Des stratégies de greffe aux protocoles immunosuppresseurs : actualités et perspectives. *Néphrologie & Thérapeutique* 2008, **4** (suppl 3) : S169.  
doi:10.1016/S1769-7255(08)74228-7

LU AD, CARTER JT, WEINSTEIN RJ, PRAPONG W, SALVATIERRA O, et coll. Excellent outcome in recipients of dual kidney transplants. *Arch Surg* 1999, **134** : 971-976

MANGE KC, JOFFE MM, FELDMAN HI. Effects of the use or nonuse of long-term dialysis on the subsequent survival of renal transplants from living donors. *N Engl J Med* 2001, **344** : 726-731

MATAS AJ, PAYNE WD, SUTHERLAND DER, HUMAR A, GRUESSNER RW, et coll. 2500 living donor kidney transplants: a single center experience. *Ann Surg* 2001, **234** : 149-164

MATSUOKA L, SHAH T, ASWAD S, BUNNAPRADIST S, CHO Y, et coll. Pulsatile perfusion reduces the incidence of delayed graft function in expanded criteria donor kidney transplantation. *Am J Transplant* 2006, **6** : 1473-1478

MEIER-KRIESCHE HU, KAPLAN B. Waiting time on dialysis as the strongest modifiable risk factor for renal transplant outcomes. *Transplantation* 2002, **74** : 1377-1381

METCALFE MS, BUTTERWORTH PC, WHITE SA, SAUNDERS RN, MURPHY GJ, et coll. A case-control comparison of the results of renal transplantation from heart-beating and non-heartbeating donors. *Transplantation* 2001, **71** : 1556

METZGER RA, DELMONICO FL, FENG S, PORT FK, WYNN JJ, MERION RM. Expanded criteria donors for kidney transplantation. *Am J Transplant* 2003, **3** (suppl 4) : 114-125

MORESO F, SERON D, ANUNCIADA AI, HUESO M, RAMON JM, et coll. Recipient body surface area as a predictor of posttransplant renal allograft evolution. *Transplantation* 1998, **65** : 671-676

NYBERG SL, MATAS AJ, KREMERS WK, THOSTENSON JD, LARSON TS, et coll. Improved scoring system to assess adult donors for cadaver renal transplantation. *Am J Transplant* 2003, **3** : 715-721

OJO AO, HANSON JA, MEIER-KRIESCHE H, OKECHUKWU CN, WOLFE RA, et coll. Survival in recipients of marginal Cadaveric Donor Kidneys compared with other recipients and wait-listed transplant candidates. *J Am Soc Nephrol* 2001, **12** : 589-597



PENA DE LA VEGA L, TORRES A, BOHORQUEZ HE, HEIMBACH JK, GLOOR JM, et coll. Patient and graft outcomes from older living donors are similar to those from younger donors despite lower GFR. *Kidney Int* 2004, **66** : 1654-1661

PENFIELD JG, DAWIDSON IA, AR'RAJAB A, KIELAR MA, JEYARAJAH DR, LU CY. Syngeneic renal transplantation increases the number of renal dendritic cells in the rat. *Transpl Immunol* 1999, **7** : 197-200

PESSIONE F, COHEN S, DURAND D, HOURMANT M, KESSLER M, et coll. Multivariate analysis of donor risk factors for graft survival in kidney transplantation. *Transplantation* 2003, **75** : 361-367

REMUZZI G, GRINYO J, RUGGENENTI P, BEATINI M, COLE EH, et coll. Early experience with dual kidney transplantation in adults using expanded donor criteria. *J Am Soc Nephrol* 1999, **10** : 2591-2598

REMUZZI G, CRAVEDI P, PERNA A, DIMITROV BD, TURTURRO M, et coll. Long-term outcome of renal transplantation from older donors. *N Engl J Med* 2006, **354** : 343-352

REUTZEL-SELKE A, JURISCH A, DENECKE C, PASCHER A, MARTINS PN, et coll. Donor age intensifies the early immune response after transplantation. *Kidney Int* 2007, **71** : 629-636

ROSENGARD BR, FENG S, ALFREY EJ, ZAROFF JG, EMOND JC, et coll. Report of the crystal city meeting to maximize the use of organs recovered from the cadaver donor. *Am J Transplant* 2002, **2** : 701-711

SANCHEZ-FRUCTUOSO AI, PRATS D, TORRENTE J, PÉREZ-CONTÍN MJ, FERNÁNDEZ C, et coll. Renal transplantation from non-heart-beating donors: a promising alternative to enlarge the donor pool. *J Am Soc Nephrol* 2000, **11** : 350-358

SANCHEZ-FRUCTUOSO AI, MARQUES M, PRATS D, CONESA J, CALVO N, et coll. Victims of cardiac arrest occurring outside the hospital: a source of transplantable kidneys. *Ann Intern Med* 2006, **145** : 157-164

SCHOLD JD, KAPLAN B, HOWARD RJ, REED AI, FOLEY DP, MEIER-KRIESCHE HU. Are we frozen in time? Analysis of the utilization and efficacy of pulsatile perfusion in renal transplantation. *Am J Transplant* 2005, **5** : 1681-1688

SHAFFER D, LANGONE A, NYLANDER WA, GORAL S, KIZILISIK AT, HELDERMAN JH. A pilot protocol of a calcineurin-inhibitor free regimen for kidney transplant recipients of marginal donor kidneys or with delayed graft function. *Clin Transplant* 2003, **17** (suppl 9) : 31-34

SHOSKES DA, CECKA JM. Deleterious effects of delayed graft function in cadaveric transplant recipients independent of acute rejection. *Transplantation* 1998, **66** : 1697-1701

SQUIFFLET JP, DE MEYER M, MALAISE J, LATINNE D, PIRSON Y, et coll. Lessons learned from ABO-incompatible living donor kidney transplantation: 20 years later. *Exp Clin Transplant* 2004, **2** : 208-213

SUAREZ JF, RIERA L, FRANCO E, RUIZ R, ROIG M, et coll. Preservation of kidneys from marginal donors with pulsatile perfusion machine. *Transplant Proc* 1999, **31** : 2292-2293

TAKADA M, NADEAU KC, HANCOCK WW, MACKENZIE HS, SHAW GD, et coll. Effects of explosive brain death on cytokine activation of peripheral organs in the rat. *Transplantation* 1998, **65** : 1533-1542

TAKAHASHI K, SAITO K, TAKAHARA S, OKUYAMA A, TANABE K, et coll. Excellent long-term outcome of ABO-incompatible living donor kidney transplantation in Japan. *Am J Transplant* 2004, **4** : 1089-1096

TAN JC, ALFREY EJ, DAFOE DC, MILLAN MT, SCANDLING JD. Dual-kidney transplantation with organs from expanded criteria donors: a long-term follow-up. *Transplantation* 2004, **78** : 692-696

TANABE K, TAKAHASHI K, SONDA K, TOKUMOTO T, ISHIKAWA N, et coll. Long-term results of ABO-incompatible living kidney transplantation: a single-center experience. *Transplantation* 1998, **65** : 224-228

TERAOKA S, NOMOTO K, KIKUCHI K, HIRANO T, SATOMI S, et coll. Outcomes of kidney transplants from non-heart-beating deceased donors as reported to the Japan Organ Transplant Network from April 1995–December 2003: a multi-center report. *Clin Transpl* 2004, **14** : 91-102

TERASAKI P, CECKA JM, GJERTSON DW, TAKEMOTO S. High survival rates of kidney transplants from spousal and living unrelated donors. *N Engl J Med* 1995, **333** : 333-336

TOMA H, TANABE K, TOKUMOTO S, TOMOKAZU SH. Time-dependent risk factors influencing the long-term outcome in living renal allografts. *Transplantation* 2001, **72** : 941-947

VALERO R, CABRER C, OPPENHEIMER F, TRIAS E, SÁNCHEZ-IBÁÑEZ J, et coll. Normothermic recirculation reduces primary graft dysfunction of kidneys obtained from non-heartbeating donors. *Transplant Int* 2000, **13** : 303-310

VAN RAEMDONCK DE, REGA FR, NEYRINCK AP, JANNIS N, VERLEDEN GM, LERUT TE. Non-heart-beating donors. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2004, **16** : 309-321

WEBER M, DINDO D, DEMARTINES N, AMBUHL PM, CLAVIEN PA. Kidney transplantation from donors without a heartbeat. *N Engl J Med* 2002, **347** : 248-255

WOLFE RA, ASHBY VB, MILFORD EL, OJO AO, AGODOA LYC, et coll. Comparison of mortality in all patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med* 1999, **341** : 1725-1730



# 12

## Transplantation hépatique : donneurs marginaux et approches alternatives

La transplantation hépatique concerne essentiellement des patients dont le pronostic vital est menacé à court ou moyen terme. Il s'agit principalement de patients ayant une cirrhose décompensée et/ou de patients ayant un carcinome hépatocellulaire (CHC). Les autres indications de transplantation hépatique (tumeurs malignes autres que le CHC, maladies métaboliques, insuffisance hépatique aiguë...) sont plus rares.

Dans cette population, le bénéfice apporté par la transplantation en termes d'espérance de vie est très élevé par rapport à un traitement médical. À titre d'exemple, l'espérance de vie d'un patient ayant une cirrhose décompensée est de l'ordre de 40 % à un an avec un traitement médical contre 80 % environ avec une transplantation (D'Amico et coll., 2006 ; Durand et Valla, 2008). Ce bénéfice est encore plus important à 5 ans. De plus, dans la plupart des cas, la qualité de vie est nettement améliorée après la transplantation (Tome et coll., 2008).

La principale limite de la transplantation hépatique en France comme dans les autres pays occidentaux est la différence constante entre le nombre de donneurs d'organes et le nombre de malades qui pourraient en tirer un bénéfice. En raison de ce déficit, il est communément admis que la transplantation ne doit être proposée qu'aux patients qui ont la probabilité la plus élevée d'en tirer un bénéfice. Les médecins référents tout comme les centres spécialisés en transplantation assurent une sélection rigoureuse des « meilleurs » candidats à la transplantation. En pratique, l'indication de transplantation est discutable si l'espérance de vie après la transplantation est inférieure à 50 % à 1 an (Neuberger, 2004). Malgré cette sélection, le nombre de receveurs potentiels reste supérieur au nombre de donneurs.

En France, environ 1 000 transplantations hépatiques sont réalisées chaque année (1 061 en 2007). Mille deux cent à 1 300 nouveaux candidats sont inscrits en liste d'attente chaque année (1 348 nouveaux inscrits en 2007 et 575 restant inscrits au début 2008). Le taux de décès des patients en liste d'attente est aux alentours de 10 % par an.

Le manque de donneurs, tout comme les bons résultats de la transplantation pour ceux qui y ont accès, ont conduit à élargir progressivement les critères de sélection des donneurs avec pour objectif d'augmenter le nombre d'organes transplantables. L'élargissement des critères de sélection à des donneurs marginaux pose les questions de la majoration du risque pour le receveur, de la limite au-delà de laquelle le risque n'est plus acceptable, de l'appariement optimal des donneurs marginaux à certaines catégories de receveurs et des stratégies pour améliorer les résultats. Ces questions concernent majoritairement les donneurs en état de mort encéphalique. Toutefois, la transplantation hépatique à partir de donneurs à cœur arrêté<sup>16</sup> ou de donneurs vivants tend également à se développer. Enfin, indépendamment du donneur lui-même, des techniques de transplantation alternatives aboutissent également à des greffons marginaux.

## Donneurs marginaux

Un donneur « idéal » est un donneur en état de mort encéphalique, âgé de moins de 40 ans, dont la cause de la mort est traumatique, dont l'hémodynamique est stable au moment du prélèvement, qui n'a pas de stéatose ni d'autre lésion parenchymateuse chronique sous-jacente et qui n'a pas de maladie transmissible (Feng et coll., 2006). Pour un donneur « idéal », le risque de non-fonctionnement ou de dysfonctionnement du greffon conduisant au décès ou à la retransplantation est inférieur à 5 %. Par définition, un donneur marginal est un donneur dont une ou plusieurs des caractéristiques diffèrent de celles d'un donneur idéal. Certains facteurs qui n'affectent pas le risque de dysfonction du greffon, tels que les maladies transmissibles, doivent être pris en compte dans la définition du donneur marginal. À l'inverse, des facteurs indépendants du donneur liés à des difficultés techniques survenant après le prélèvement par exemple, ne doivent pas être pris en compte dans cette définition.

## Effets de la mort encéphalique et prise en charge du donneur avant le prélèvement

La mort encéphalique a de nombreuses conséquences qui peuvent avoir un impact sur le fonctionnement ultérieur du greffon hépatique. Toutefois, à condition que le parenchyme hépatique soit normal, le foie est un des organes les plus résistants à ces désordres.

L'impact de la mort encéphalique sur le greffon hépatique est essentiellement lié aux troubles hémodynamiques. Les troubles circulatoires (hypotension,

---

16. Bien qu'autorisé par décret, le prélèvement à cœur arrêté n'est pas encore pratiqué dans le cadre de la greffe hépatique en France.

hypoperfusion) sont la principale cause de nécrose hépatocytaire chez le donneur (Wilhelm et coll., 2000). Une hypotension sévère et/ou une augmentation des pressions de remplissage (congestion) peuvent être à l'origine d'une ischémie du parenchyme hépatique et/ou d'une congestion. Ces lésions sont très rapidement réversibles si l'hémodynamique se corrige. Il n'existe pas de seuil de transaminases au dessus duquel on considère qu'il existe une contre-indication à la transplantation. La valeur des transaminases dans un contexte d'ischémie hépatique doit être prise en compte avec d'autres critères tels que l'âge du donneur et les antécédents. Même lorsque la valeur initiale des transaminases dépasse 10 fois la limite supérieure de la normale, une diminution rapide dans les heures qui suivent incite à la transplantation.

La mort encéphalique s'accompagne probablement d'une diminution des réserves énergétiques. Il n'est pas clairement établi qu'une supplémentation calorique chez le donneur ait une influence positive sur le fonctionnement du greffon hépatique.

De nombreux éléments suggèrent que la mort encéphalique s'accompagne d'une dysfonction de l'axe hypothalamo-hypophysaire avec comme conséquence une diminution de la production d'hormones thyroïdiennes et de stéroïdes (Lutz-Dettinger et coll., 2001). Jusqu'à présent, il n'a pas été clairement démontré que la supplémentation en hormones thyroïdiennes et/ou en stéroïdes a un impact significatif sur le fonctionnement du greffon hépatique (Salim et coll., 2001 ; Rosendale et coll., 2003). Le rôle potentiel de l'alimentation parentérale et de l'administration de N-acétyl cystéine doit être documenté par des études spécifiques.

### Ischémie froide

En transplantation hépatique, la durée de l'ischémie froide ne doit pas en principe excéder 10 à 12 heures. Cette durée « maximale » est plus courte que pour la transplantation rénale et plus longue que pour la transplantation cardiaque ou pulmonaire. L'ischémie froide prolongée est un facteur de risque indépendant de non-fonctionnement ou de dysfonctionnement de greffon hépatique (Piratvisuth et coll., 1995 ; Adam et coll., 2000 ; Cameron et coll., 2006). Les données du Registre européen de transplantation hépatique (ELTR pour *European Liver Transplant Registry*) montrent que la survie à 5 ans des greffons est de 57 % lorsque l'ischémie froide dépasse 15 heures contre 64 % et 67 % lorsque l'ischémie froide est respectivement entre 12 et 15 heures ou inférieure à 12 heures (ELTR, 2007).

Les greffons marginaux provenant de donneurs âgés ou ayant une stéatose sont plus sensibles à l'ischémie froide. Pour ces donneurs, il est recommandé de ne pas prolonger la durée de l'ischémie froide au-delà de 8 heures, ce qui pose des contraintes logistiques (Yersiz et coll., 1995). Plus le degré de stéatose macrovésiculaire est élevé, moins la tolérance à l'ischémie froide est

bonne. On ne sait pas si des systèmes de perfusion artificielle du foie après le prélèvement pourraient permettre de réduire les effets de l'ischémie froide ou d'en prolonger la durée. Des études expérimentales dans ce domaine sont souhaitables.

### **Solutions de conservation**

Les solutés de conservation des organes ont pour objectifs de limiter les lésions cellulaires pendant la durée de l'ischémie froide et de minimiser les lésions secondaires à la reperfusion. La solution de Wisconsin (ou solution de Belzer<sup>®</sup> ou UW<sup>®</sup>) a été une avancée majeure dans la conservation des organes par rapport aux solutés antérieurs (Belzer et Southard, 1986 ; Belzer et coll., 1992 ; Cavallari et coll., 2003). Elle est utilisée en routine depuis plus de 20 ans. Il existe maintenant trois principaux solutés de conservation alternatifs : Celsior<sup>®</sup>, HTK<sup>®</sup> et IGL-1<sup>®</sup> (Howden et Jablonski, 2000 ; Ben Mosbah et coll., 2006 ; Feng et coll., 2007). Jusqu'à présent, aucune étude n'a formellement démontré la supériorité de l'un de ces solutés par rapport à la solution de Wisconsin. Toutefois, aucune étude n'a inclus un nombre de malades suffisant pour mettre en évidence une différence en termes de survie des greffons ou de survie des malades. On peut raisonnablement supposer que les contraintes d'un liquide de conservation varient en fonction de certaines caractéristiques du greffon comme le degré de stéatose en particulier. À titre d'exemple, le soluté IGL-1<sup>®</sup>, dont la viscosité est faible, pourrait être supérieur à la solution de Wisconsin pour des greffons stéatosiques (Ben Mosbah et coll., 2006). Le principe de solutions de conservation et/ou de solutions de rinçage « à la carte », en fonction des caractéristiques du greffon est attractif. Toutefois, l'incidence des non-fonctions primaires est faible et les effets de la conservation sur le greffon peuvent être retardés. Des études destinées à démontrer la supériorité d'un liquide de conservation devraient donc inclure un nombre très élevé de patients et/ou correspondre à une période d'observation de plusieurs années. Ces contraintes limitent le développement d'études comparatives chez l'homme. De plus, l'évaluation des liquides de conservation ne peut se concevoir que dans le cadre d'un prélèvement multi-organes. Les objectifs concernant un organe doivent être conciliés avec ceux des autres organes prélevés.

### **Greffons hépatiques stéatosiques**

La stéatose correspond à l'accumulation de gouttelettes lipidiques au sein du cytoplasme des hépatocytes. Il peut s'agir soit de volumineuses vacuoles refoulant le noyau en périphérie de la cellule (stéatose macrovésiculaire) soit d'une multitude de petites vacuoles (stéatose microvésiculaire). La stéatose macrovésiculaire est fréquente dans la population générale. Elle est favorisée

par la surcharge pondérale, la consommation excessive d'alcool et le diabète, entre autres facteurs. La stéatose peut être mixte avec un composant de stéatose microvésiculaire. Il s'agit d'une anomalie bénigne, réversible et qui n'altère pas les fonctions hépatiques (sauf à long terme en cas de stéatohépatite). La stéatose microvésiculaire isolée est beaucoup plus rare. Les facteurs prédisposants sont différents (certains médicaments, certaines anomalies métaboliques).

Paradoxalement, alors que la stéatose macrovésiculaire est une affection tout à fait bénigne et réversible, elle constitue un risque majeur de dysfonctionnement précoce en cas de transplantation. La capacité de régénération et la tolérance aux lésions d'ischémie/reperfusion sont nettement altérées par rapport aux greffons non stéatosiques (Verran et coll., 2003). Le risque dépend de l'extension de la stéatose (pourcentage d'hépatocytes contenant des vacuoles lipidiques). Il a été montré qu'entre 0 % et 30 %, le risque est faible ; qu'entre 30 % et 60 %, le risque est significatif et qu'au-delà de 60 %, le risque est majeur (Urena et coll., 1998 ; Selzner et Clavien, 2001 ; Zamboni et coll., 2001 ; Imber et coll., 2002). Une stéatose supérieure à 60 % représente habituellement une contre-indication à la transplantation. Pour une stéatose comprise entre 30 et 60 %, le risque de non-fonction primaire peut atteindre 15 % et le risque de dysfonction précoce peut atteindre 35 % (D'Alessandro et coll., 1991 ; Ploeg et coll., 1993 ; Canelo et coll., 1999). Quel que soit le degré de stéatose, l'existence de lésions associées (infiltrats inflammatoires marqués, fibrose même discrète) constitue également une contre-indication. Lorsque la reprise fonctionnelle du greffon est satisfaisante, la stéatose régresse. Il n'est pas clairement démontré qu'elle a un impact significatif sur la survie du greffon à long terme, indépendamment des autres facteurs.

Le diagnostic de stéatose chez le donneur est suspecté par les antécédents médicaux, les anomalies des tests hépatiques et surtout l'échographie. L'examen du foie lors du prélèvement (volume, coloration, consistance) apporte également des éléments de décision. Toutefois, la corrélation entre l'extension de la stéatose et l'aspect macroscopique est imparfaite. En cas de doute, une biopsie du greffon avec un examen extemporané doivent être effectués (Frankel et coll., 2002). La biopsie a un intérêt particulier pour identifier les lésions associées à la stéatose.

Certaines études suggèrent que le risque lié à la stéatose microvésiculaire est beaucoup plus faible (Fishbein et coll., 1997 ; McCormack et coll., 2007). En cas de stéatose microvésiculaire isolée, les limites pourraient être étendues au-delà de 60 %. Toutefois, l'existence d'une stéatose microvésiculaire isolée est rare. En cas de stéatose mixte, il a été suggéré de ne prendre en compte que la stéatose macrovésiculaire pour estimer le risque. Cette approche n'a pas été clairement validée.

En cas de stéatose, il est impératif de réduire autant que possible la durée de l'ischémie froide. Une biopsie est souvent nécessaire en sachant qu'elle augmente la durée de l'ischémie froide pour des raisons logistiques.



Au total, la stéatose représente probablement la cause la plus fréquente de dysfonctionnement précoce ou de non-fonctionnement primaire du greffon. Il s'agit aussi d'une cause relativement fréquente de refus de l'organe (la stéatose étant fréquente dans la population générale comme dans celle des donneurs). Il existe un paradoxe entre le fait que la stéatose est bénigne dans la population générale (même lorsqu'elle excède 60 %) et le fait qu'elle constitue un facteur de risque majeur en cas de prélèvement et de transplantation. De plus, la stéatose est potentiellement réversible. Une des raisons de ce paradoxe est que la tolérance à l'ischémie et à la reperfusion est clairement altérée en cas de stéatose. On peut supposer que des mesures spécifiques et combinées (réduction de l'ischémie froide, solution de conservation adaptée, réduction de volume du foie) pourraient permettre d'étendre les limites d'utilisation des greffons stéatosiques. Le potentiel en termes d'augmentation du nombre des donneurs est important. Des travaux expérimentaux sont nécessaires dans ce domaine.

### **Donneurs âgés**

Au cours des dernières années, l'âge moyen des donneurs a augmenté en France comme dans la plupart des autres pays d'Europe et aux États-Unis. Il n'existe pas de limite formelle concernant l'âge du donneur en transplantation hépatique. Des greffons prélevés chez des donneurs de plus de 80 ans peuvent être transplantés avec d'excellents résultats (Jimenez Romero et coll., 1999 ; Nardo et coll., 2004). Toutefois, les capacités de régénération du foie diminuent avec l'âge. L'âge avancé constitue un facteur de risque indépendant de défaillance du greffon et le risque correspondant est continu (Feng et coll., 2006).

L'âge a un impact particulièrement marqué chez les receveurs ayant une infection par le virus de l'hépatite C (VHC). Plusieurs études ont clairement montré que la récurrence de l'hépatite C est plus sévère et que la fibrose est plus rapidement évolutive lorsque le donneur est âgé (Berenguer et coll., 2002 ; Wali et coll., 2002 ; Berenguer, 2005 ; Mutimer et coll., 2006). La majoration du risque existe dès que l'âge du donneur excède 40 ans. Les mécanismes impliqués dans l'interaction entre l'âge du donneur et la sévérité de la récurrence de l'hépatite C n'ont pas été clairement identifiés. Des travaux spécifiques sur ce thème sont souhaitables. Empiriquement, on évite généralement de transplanter des receveurs jeunes avec des greffons prélevés chez des donneurs âgés. Toutefois, en dehors du cas particulier de l'hépatite C, il n'a pas été identifié de population à haut risque vis-à-vis des donneurs âgés.

L'âge du donneur est une variable non modifiable. Il est fortement recommandé (dans la mesure du possible) de ne pas transplanter des receveurs infectés par le VHC avec des greffons hépatiques provenant de donneurs

âgés. Seule une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans cette interaction spécifique pourrait permettre de proposer des stratégies innovantes.

### **Donneurs ayant une infection bactérienne, fongique ou virale**

Une infection bactérienne documentée chez le donneur (y compris une infection du système nerveux central) (Lopez-Navidad et coll., 1997) ne constitue pas une contre-indication à la transplantation hépatique. Même en cas de bactériémie documentée chez le donneur, le risque de transmission de l'infection bactérienne est faible. Lorsque des cultures du liquide de conservation sont positives pour des bactéries ou des champignons, *Candida* ou *Aspergillus*, un traitement prophylactique empirique est généralement recommandé (Freeman et coll., 1999 ; Lumbreras et coll., 2001 ; Cerutti et coll., 2006).

L'infection du donneur par le VIH représente actuellement une contre-indication à la transplantation.

L'utilisation de greffons hépatiques issus de donneurs infectés par le VHC est possible dans le cadre d'un protocole dérogatoire, après avoir informé le receveur et obtenu son consentement. Il est indispensable de vérifier l'absence de fibrose significative du greffon (et donc en principe de faire une biopsie et un examen extemporané). Ce protocole ne se conçoit que pour des receveurs déjà infectés par le VHC. Des résultats favorables ont déjà été publiés (Vargas et coll., 1999 ; Velidedeoglu et coll., 2002). Toutefois, la contribution des donneurs infectés par le VHC à l'expansion du pool des donneurs dépend de l'épidémiologie locale. En France, l'infection par le VHC est relativement rare et cette contribution ne peut être que modeste.

L'utilisation de donneurs ayant une hépatite B « guérie », anticorps (Ac) anti-HBc positifs ± Ac anti-HBs positifs, est également possible dans le cadre d'un protocole dérogatoire en France. Une difficulté vient du fait que la guérison sérologique ne signifie pas l'éradication des particules virales infectantes. En l'absence de prophylaxie, le risque de réactivation de l'hépatite B est supérieur à 80 %. Les greffons provenant de donneurs Ac anti-HBc positif sont utilisés en pratique courante pour des receveurs déjà infectés par le VHB (antigène HBs positifs) (Dickson et coll., 1997). Quel que soit le greffon, ces receveurs doivent recevoir une prophylaxie par des immunoglobulines anti-HBs et des antiviraux. Dans ce contexte, il n'y a pas d'argument pour penser que le risque de récurrence est plus élevé lorsque le donneur a une sérologie d'hépatite B guérie. La transplantation de patients non infectés par le virus B (antigène HBs négatifs) avec un donneur Ac anti-HBc positif est plus controversée car elle implique une prophylaxie au long cours, avec un risque d'hépatite B acquise, transmise par le greffon. Une évaluation prospective des résultats est nécessaire.

### **Donneurs ayant un cancer ou un antécédent de cancer**

En règle générale, l'existence d'un cancer ou un antécédent de cancer chez le donneur est une contre-indication à la transplantation. L'incidence d'un cancer dans la population des donneurs est d'environ 3 % et le risque de transmission d'un cancer au receveur est d'environ 0,01 % (Kauffman et coll., 2000 et 2002 ; Buell et coll., 2006). Les cancers les plus fréquemment transmis sont les tumeurs du système nerveux central, les mélanomes, des tumeurs du rein et des tumeurs pulmonaires. Le risque de transmission est plus élevé si le cancer est métastatique et si la différenciation tumorale est faible. Les tumeurs du système nerveux central, lorsqu'elles sont bien différenciées, ne représentent pas nécessairement une contre-indication à la transplantation (Buell et coll., 2006). Il en est de même des cancers cutanés (en dehors du mélanome).

Une immunosuppression fondée sur les inhibiteurs de m-TOR, agents ayant à la fois des propriétés immunosuppressives et anti-tumorales, a été suggérée lorsque le donneur a un cancer. Le bénéfice de ce traitement n'a pas été évalué. Une meilleure appréciation du risque spécifique de transmission pour différents types de tumeurs ne peut être fondée que sur l'analyse de larges registres, tels que le registre UNOS (*United Network for Organ Sharing*) (2007) ou celui de l'ELTR (2007).

### **Greffon partagé (*split*)**

Un greffon hépatique peut être partagé en 2 entités anatomiques (ou deux héli-greffons) autonomes, avec pour chacun un apport artériel, un apport portal, un effluent sus hépatique et un drainage biliaire. Le greffon droit représente environ 2/3 du volume total du foie et le greffon gauche 1/3. Le poids du greffon doit représenter au minimum 0,08 à 0,1 % du poids du corps. En pratique, un greffon droit peut être utilisé pour la plupart des adultes. En revanche, un greffon gauche ne peut être utilisé que pour un enfant ou, rarement, pour un adulte de petite taille.

La technique du foie partagé est couramment utilisée pour transplanter des enfants. Le greffon gauche est transplanté à un receveur pédiatrique qui est prioritaire et le greffon droit est transplanté à un adulte. Cette technique a permis de pallier en grande partie le manque de donneurs pédiatriques. Les résultats sont équivalents ou supérieurs à ceux de la transplantation avec un greffon entier (Burdelski et Rogiers, 2005). Chez l'adulte, les résultats sont un peu moins bons que ceux de la transplantation avec un greffon entier, avec une augmentation du taux de défaillance du greffon et une augmentation de la morbidité pour le receveur (Adam et coll., 2000 ; Renz et coll., 2004 ; Burroughs et coll., 2006 ; Feng et coll., 2006 ; Wilms et coll., 2006).

faible et, surtout, que la technique est plus complexe, avec une incidence accrue de complications vasculaires et biliaires.

La technique du foie partagé est fortement encouragée dans la mesure où elle permet de transplanter 2 receveurs avec un seul donneur. Toutefois, indépendamment des résultats, elle est limitée par plusieurs éléments. Seuls les greffons de qualité optimale peuvent être partagés. Les greffons pour lesquels il existe déjà un facteur de risque (stéatose, âge avancé...) ne sont pas partagés car le risque cumulé devient trop élevé. Les receveurs d'un greffon gauche sont essentiellement des enfants. Or, la liste d'attente pédiatrique est limitée comparée à celle des adultes. Le pool des receveurs pédiatriques est plus rapidement saturé que celui des adultes. Il est assez rare qu'un adulte puisse être transplanté avec un greffon gauche (Sommacale et coll., 2000 ; Humar et coll., 2001). L'application de la technique impose une excellente coordination et une proximité géographique entre une équipe de transplantation pédiatrique et une équipe de transplantation adulte. Ces conditions ne sont remplies que dans quelques régions de France. Dans les autres régions, le partage du greffon, même s'il est techniquement possible est plus rarement envisagé. Enfin, et toujours pour des raisons logistiques, il est rare que deux transplantations puissent être réalisées dans un seul centre, en même temps, à partir d'un seul greffon partagé.

Des efforts devraient se concentrer sur l'identification plus systématique des receveurs adultes qui pourraient bénéficier d'un foie partagé (en particulier avec un greffon gauche), sur une incitation plus importante au partage, sur l'éducation des équipes de prélèvement et sur le regroupement des compétences.

Il a été suggéré qu'un partage *in vivo* (à cœur battant) du greffon, lors du prélèvement, pourrait améliorer les résultats. Dans les centres expérimentés, il n'existe pas pour les greffons partagés de différence entre le prélèvement *in vivo* et le prélèvement *ex vivo* (Noujaim et coll., 2003). Cette dernière technique, moins contraignante pour les équipes de prélèvement d'organes autres que le foie, est la plus utilisée.

## Transplantation à partir d'un donneur vivant

La transplantation d'un greffon partiel prélevé chez un donneur vivant est techniquement possible au même titre que le partage d'un foie prélevé chez un donneur en état de mort encéphalique en 2 héli-greffons (droit et gauche). En cas de donneur vivant, on prélève *in situ* la partie gauche ou droite du foie et on laisse en place l'autre partie. Cet héli foie autonome va rapidement régénérer chez le donneur avec, au terme de quelques semaines, une restitution intégrale des fonctions hépatiques. Chez le receveur, le greffon partiel va également régénérer en quelques semaines.

Chez l'enfant, on utilise habituellement un greffon gauche prélevé chez un des parents. Les résultats de la transplantation par donneur vivant chez l'enfant sont équivalents ou un peu supérieurs à ceux de la transplantation par donneur en état de mort encéphalique (ELTR, 2007).

Chez l'adulte, on doit habituellement utiliser un greffon droit pour obtenir une masse suffisante de parenchyme hépatique. On réalise donc chez le donneur une hépatectomie droite et on laisse en place le foie gauche. Chez le donneur, on doit laisser en place au moins 35 % du volume du foie natif pour éviter une insuffisance hépatique post-opératoire. Chez le receveur, on doit apporter un greffon pesant au moins 0,08 à 0,1 % du poids du corps (ce qui correspond à environ 50 % du volume théorique du foie). En théorie, la technique du donneur vivant chez l'adulte est une des alternatives les plus attractives pour pallier le manque de donneurs cadavériques. En pratique, son expansion est limitée par plusieurs éléments. La transplantation par donneur vivant est limitée par un cadre légal rigoureux. De plus, le donneur doit avoir un foie normal et aucune pathologie sous-jacente (même bénigne) qui constituerait un risque opératoire significatif. De ce fait, seule une minorité des candidats à la transplantation peut bénéficier d'un donneur vivant. Un greffon prélevé chez un donneur vivant reste un greffon marginal, même si le parenchyme hépatique est strictement normal et même s'il s'agit d'un greffon droit. Les vaisseaux et les canaux biliaires sont de petite taille. Les anastomoses sont complexes et les complications chirurgicales correspondantes sont fréquentes (Trotter et coll., 2002 ; Olthoff et coll., 2005 ; Pomposelli et coll., 2006 ; Berg et coll., 2007). De plus, le volume initial du foie est plus faible et la reprise de fonctions hépatiques satisfaisantes peut être différée.

Même si le donneur n'a aucun risque chirurgical objectif, le risque opératoire d'une hépatectomie droite n'est pas nul. Il s'agit d'une intervention majeure avec une morbidité de l'ordre de 20-25 % et un risque de mortalité de l'ordre de 0,2 % (Dondero et coll., 2006). Ce risque doit être considéré en tenant compte du fait que le donneur, par définition en bonne santé, ne justifie pas d'une intervention chirurgicale lourde pour lui-même. À distance, la restauration des fonctions hépatiques peut être considérée comme complète chez le donneur. Toutefois, les conséquences médicales et psychologiques à long terme peuvent ne pas être négligeables.

Dans les pays asiatiques industrialisés (Japon, Corée du Sud, Hong-Kong), la transplantation par donneur en état de mort encéphalique est très limitée ou inexistante. La transplantation d'adultes à partir de donneurs vivants est pratiquée en routine avec d'excellents résultats, tant pour la survie du receveur que pour la sécurité du donneur (Liu et coll., 2006 ; Chan et coll., 2007). La technique est en expansion. Dans les pays occidentaux (Europe, États-Unis), après une période initiale d'expansion, la transplantation d'adultes à partir de donneurs vivants s'est stabilisée puis a diminué. Les

résultats de la transplantation par donneur vivant restent moins bons que ceux de la transplantation par donneur en état de mort encéphalique (ELTR, 2007 ; UNOS, 2007). De plus, cette stagnation est en partie liée au fait que l'apprentissage n'a pas été optimum dans la plupart des centres occidentaux. En effet, ces centres ont réalisé un nombre limité de transplantations par donneur vivant chaque année, en parallèle avec un programme de transplantation par donneur en état de mort encéphalique beaucoup plus important. Il apparaît clairement que lorsque le volume des transplantations par donneur vivant augmente, les résultats s'améliorent (Berg et coll., 2007 ; Freeman et coll., 2008). Enfin, les quelques décès survenus chez des donneurs en Europe et aux États-Unis ont eu un impact très négatif sur les équipes comme sur l'opinion publique.

Au total, en France comme dans les autres pays occidentaux, le nombre de donneurs en état de mort encéphalique est insuffisant pour répondre à la demande de greffe. La transplantation par donneur vivant est une alternative fiable pour améliorer l'accès à la transplantation (Freeman et coll., 2008). Les résultats sont excellents en Asie. Malgré tout, la transplantation par donneur vivant chez l'adulte stagne ou régresse dans les pays occidentaux. Cette tendance ne peut être inversée que par un réinvestissement d'équipes spécialisées, avec une activité régulière et une amélioration des techniques, faisant intervenir la microchirurgie.

La morbidité liée au prélèvement de greffon gauche chez un donneur adulte est nettement inférieure à celle du lobe droit. La transplantation de greffons gauches est théoriquement une option attractive. Toutefois, en dehors de quelques centres asiatiques (Kawasaki, 2003 ; Hwang et coll., 2006 ; Soejima et coll., 2008), les résultats sont mauvais, en raison de la petite taille du greffon et d'un taux élevé de dysfonctionnement (ou non-fonctionnement) précoce. Cependant, il apparaît paradoxal que la régénération du foie gauche (représentant 35 % du volume du foie initial) se fasse rapidement chez le donneur alors que, chez le receveur adulte la transplantation d'un greffon gauche (représentant également 35 % du volume théorique du foie) aboutisse généralement à une régénération insuffisante et à une insuffisance hépatique post-opératoire. Ce paradoxe pourrait être lié à plusieurs facteurs incluant la demande énergétique propre du receveur (peut-être plus élevée que celle du donneur), les facteurs trophiques du receveur (peut-être plus limités que ceux du donneur), des facteurs techniques (positionnement du greffon, vascularisation non optimale) et les effets de l'ischémie/reperfusion. Une meilleure compréhension de ces mécanismes et des techniques adaptées pourrait conduire à reconsidérer la transplantation de greffons gauches chez l'adulte.

Une autre approche consiste à transplanter 2 greffons gauches prélevés chez deux donneurs différents (Hwang et coll., 2006). Les avantages de cette technique sont que la morbidité pour chaque donneur est plus faible et que

la masse totale de parenchyme hépatique est plus élevée pour le receveur. Cette technique reste toutefois complexe au point de vue chirurgical et logistique.

## **Donneur à cœur arrêté**

La transplantation à partir de donneurs à cœur arrêté est une alternative attractive pour augmenter le nombre de donneurs (Deshpande et Heaton, 2006). Elle consiste à prélever un greffon chez un sujet ayant eu un arrêt cardiaque non récupéré. La condition est que le prélèvement ait lieu dans un délai très court après l'arrêt cardiaque. Cette pratique est déjà utilisée pour réaliser des transplantations rénales. Elle est en cours de développement pour la transplantation hépatique.

En pratique, il peut s'agir d'un arrêt cardiaque survenu à l'hôpital ou en dehors de l'hôpital (dans ce dernier cas, la prise en charge initiale et la filière d'acheminement vers un centre spécialisé ont une importance capitale). Les critères de sélection du donneur potentiel sont plus restrictifs concernant l'âge et les comorbidités. Après le diagnostic d'arrêt cardiaque irréversible et de décès, une perfusion extracorporelle peut être utilisée pour améliorer la perfusion des organes. Dans tous les cas, la période d'ischémie « chaude » doit être aussi brève que possible (de l'ordre de 15 minutes). La période d'ischémie froide (lorsque l'organe est perfusé par la solution de conservation et refroidi) doit également être relativement courte. Il est fortement recommandé de réaliser une biopsie systématique afin de s'assurer de l'absence de lésion hépatique sous-jacente.

Des résultats encourageants ont été publiés par plusieurs équipes (Abt et coll., 2004 ; Muiesan et coll., 2005). Le taux de non-fonction primaire dans les études les plus récentes est inférieur à 15 %. En dehors du risque de non-fonction primaire, une des limites de cette technique est la survenue plus fréquente de cholangites<sup>17</sup> diffuses de type ischémique, conduisant à la perte fonctionnelle du greffon. Ces cholangites sont probablement liées à la fragilité particulière des canaux biliaires vis-à-vis de l'ischémie. Les résultats en transplantation rénale sont également encourageants.

L'expansion de cette technique dépend principalement d'éléments logistiques avec la sensibilisation et la formation des unités de soins ambulatoires d'urgence, la création de réseaux de prise en charge et la formation d'équipes de prélèvement. Les différentes modalités de reperfusion des organes chez le donneur, avant le prélèvement (systèmes de circulation et d'oxygénation

---

312 17. La cholangite est une inflammation des voies biliaires.

extracorporelles) restent à évaluer. L'expansion de la transplantation à partir de donneurs à cœur arrêté pourrait apporter 10 à 20 % de greffons supplémentaires (Muiesan et coll., 2005 ; Deshpande et Heaton, 2006).

## Transplantation en « domino »

La neuropathie amyloïde familiale est une maladie génétique rare caractérisée par la synthèse (essentiellement hépatique) d'une protéine anormale, variante de la transtyréthine, ayant la propriété de se déposer dans les tissus. Cette protéine se dépose principalement dans le système nerveux périphérique avec comme conséquence une neuropathie. La neuropathie conduit à des troubles moteurs, sensitifs et végétatifs. Les troubles moteurs et végétatifs conduisent habituellement au décès avant l'âge de 50 ans. En dehors de la mutation du gène de la transtyréthine, le foie est fonctionnellement « normal ». Le seul traitement de cette affection est l'hépatectomie totale (dans le but d'arrêter la production de la protéine anormale) et la transplantation hépatique. Lorsque les malades atteints de neuropathie amyloïde reçoivent un greffon provenant d'un donneur en état de mort encéphalique, leur foie explanté peut être transplanté à un autre receveur. L'anomalie génétique est transmise par le greffon. Toutefois, les manifestations en rapport avec la neuropathie n'apparaissent pas avant au moins 10 à 20 ans. Dans la mesure du possible, on ne propose la transplantation « en domino » qu'à des receveurs âgés de plus de 60 ans ou à des receveurs pour lesquels l'espérance de vie après la transplantation est limitée. Plusieurs séries ont été publiées avec d'excellents résultats (Herlenius et coll., 2004 ; FAPWTR, 2007 ; Yamamoto et coll., 2007). Dans une série de 540 transplantations en domino, seuls 2 receveurs avaient développé des manifestations débutantes de neuropathie 7 et 8 ans après la transplantation, respectivement (FAPWTR, 2007). La neuropathie amyloïde est une maladie rare. La contribution de la transplantation en domino est donc limitée.

## Quantification du risque lié au donneur et appariement entre le donneur et le receveur

En pratique, il n'existe pas de « bon » ou de « mauvais » greffon. Le risque lié à un greffon est un continuum. Plusieurs facteurs de risque peuvent être associés. Un score de risque des donneurs a été établi à partir de l'analyse des facteurs de risque du donneur associés au rejet de la greffe dans une très large série nord américaine. Ce score prend en compte plusieurs variables ayant une influence indépendante sur le risque de défaillance du greffon



(tableau 12.I) (Feng et coll., 2006). Chaque facteur est pondéré par son propre impact sur le risque de défaillance du greffon. Ce score est utile pour quantifier le risque lié à un greffon donné. Toutefois, il faut en souligner les limites. Certaines variables qui ont été établies à partir d'une base de données nord américaine sont difficilement applicables en Europe (donneur Africain-Américain *versus* Caucasiens ; échange régional *versus* échange national). Le score prend en compte la durée de l'ischémie froide qui ne peut pas toujours être évaluée au moment de la proposition de l'organe (elle dépend notamment de la durée de l'hépatectomie chez le receveur). Des variables telles que la stéatose ne sont pas prises en compte. Le score prédit la défaillance du greffon dont la définition est imprécise (il peut s'agir d'une défaillance précoce ou tardive, liée à la qualité du greffon lui-même ou à la récurrence de la maladie). Enfin, le score de risque du donneur ne permet pas de répondre à la question de l'appariement optimal entre le donneur et le receveur.

**Tableau 12.I : Variables du donneur ayant un impact sur le risque de défaillance du greffon (d'après Feng et coll., 2006)**

Variable concernant le donneur	Risque relatif	p
Âge (années)		
< 40	1,00	0,0002
40-49	1,17	< 0,0001
50-59	1,32	< 0,0001
60-69	1,53	< 0,0001
> 70	1,65	< 0,0001
Africain-Américain ( <i>versus</i> Caucasiens)	1,19	< 0,0001
Taille du donneur (par classe de 10 cm)	1,07	< 0,0001
Cause du décès : accident vasculaire cérébral	1,16	< 0,0001
Cause du décès : autre <sup>1</sup>	1,20	0,018
Donneur à cœur arrêté	1,51	0,0006
Greffon partiel/ <i>split</i>	1,52	< 0,0001

<sup>1</sup> La cause du décès est autre qu'un traumatisme, un accident vasculaire cérébral ou une anoxie.

Score de risque du donneur = *Expected graft survival* = [(0,0154 si 40 ≤ âge < 50) + (0,274 si 50 ≤ âge < 60) + (0,424 si 60 ≤ âge < 70) + (0,501 si 70 ≤ âge) + (0,079 si CDD = anoxie) + (0,145 si CDD = AVC) + (0,184 si CDD = autre) + (0,176 si ethnies = Africain-Américain) + (0,126 si ethnies = autre) + (0,411 si donneur à cœur arrêté) + (0,422 si greffon partiel) + (0,066 ((170-taille)/10)) + (0,105 partage régional du greffon) + (0,244 partage national du greffon) + (0,010 × durée de l'ischémie froide)]

CDD : cause du décès ; AVC : accident vasculaire cérébral

Initialement, il était généralement accepté que les greffons optimaux devraient être attribués en priorité aux receveurs à haut risque. Le manque de donneurs et l'expérience des donneurs marginaux ont conduit à réviser cette politique. Il est en effet apparu que le bénéfice apporté par la

transplantation en termes de survie est plus élevé lorsque les greffons issus de donneurs marginaux sont attribués à des receveurs dont le score MELD (*Model for Endstage Liver Disease*) est élevé (supérieur à 20) (Schaubel et coll., 2008). De plus, le risque lié au donneur a un impact comparable chez les receveurs à faible risque et chez les receveurs à haut risque (Maluf et coll., 2006). En conséquence, il est désormais recommandé d'attribuer les donneurs marginaux à des receveurs pour lesquels le risque de décès en liste d'attente est élevé (score MELD supérieur à 20). Toutefois, il n'existe pas d'algorithme permettant d'optimiser l'attribution d'un donneur à un receveur spécifique avec comme objectif le bénéfice de survie le plus élevé.

## Perspectives en transplantation hépatique

Ces perspectives sont à mettre en relation avec la création d'équipes spécialisées pour atteindre des seuils d'activité suffisants. Elles dépendent également du développement de projets de recherche pour mieux définir l'attribution optimale des greffons issus de donneurs marginaux.

### Utilisation des greffons marginaux et approches alternatives

La majorité des transplantations est désormais réalisée à partir de donneurs marginaux et/ou de greffons marginaux. Les principales sources d'extension du pool des donneurs sont les donneurs âgés, les donneurs ayant un foie stéatosique, et les greffons partagés (*split*). Il est probable que la transplantation d'adultes à partir de donneurs vivants va se stabiliser à un niveau faible ou diminuer encore dans les pays occidentaux au cours des prochaines années. En effet, il n'existe pas de solution simple pour concilier la réduction du risque pour le donneur et l'amélioration des résultats. La ré-expansion de la transplantation par donneurs vivants supposerait des centres très spécialisés, un nombre de transplantations par donneurs vivants au dessus d'une masse critique (de l'ordre de 20 à 30 par an) et l'acquisition d'une expertise chirurgicale spécifique, incluant la micro-chirurgie. Un réinvestissement dans la transplantation de lobes gauches chez l'adulte serait souhaitable pour tenter d'améliorer les résultats. Il semble peu probable que toutes ces conditions soient réunies dans les quelques années à venir en France.

À l'inverse, le nombre de transplantations à partir de donneurs à cœur arrêté pourrait augmenter sensiblement au cours des années à venir. L'expansion de la transplantation à partir de donneurs à cœur arrêté dépend de conditions logistiques : création de réseaux de prise en charge, création d'équipes spécialisées, dotation en matériel de perfusion extracorporelle. Là encore, il est souhaitable de débiter avec des centres spécialisés pour atteindre un seuil d'activité suffisant.

Il existe actuellement une forte incitation au partage des greffons (*split*). Malgré tout, le foie partagé ne représente qu'une minorité des transplantations et il n'y a pas de tendance à l'expansion. Cette relative stagnation vient du fait que le partage ne se fait actuellement qu'entre une équipe pédiatrique (pour le greffon gauche) et une équipe adulte (pour le greffon droit). Il existe peu de sites en France où les équipes pédiatriques sont suffisamment proches d'une équipe adulte pour réaliser un partage. Les listes d'attente pédiatriques sont relativement faibles en nombre. Un recensement des greffons qui auraient pu être partagés et qui ne l'ont pas été pour des raisons logistiques est souhaitable. Une sensibilisation des équipes adultes éloignées des centres pédiatriques est également souhaitable.

En parallèle aux campagnes de sensibilisation au don d'organes dans la population générale, il est important de sensibiliser les responsables de l'attribution des greffons et les équipes de prélèvement aux donneurs marginaux. Les contre-indications aux prélèvements (en dehors de celles qui sont clairement identifiées par les textes législatifs) doivent être validées par des experts. La centralisation des compétences (regroupement de centres) est souhaitable pour garantir l'expertise technique. Cette expertise est indispensable dans certains domaines comme les transplantations par foie partagé et la transplantation par donneurs vivants (entre autres).

### **Recherche fondamentale, études cliniques et analyse de populations**

Le fait que les résultats obtenus avec les donneurs stéatosiques (très fréquents) sont moins bons est un constat largement rapporté. Des programmes de recherche fondamentale destinés à mieux comprendre les mécanismes impliqués et à identifier des pistes pour mieux utiliser ces greffons (et peut-être étendre les limites) devraient être proposés. Ils devraient prendre en compte la question des solutions de conservation, l'objectif étant de développer des solutions de conservation spécifiques, mieux adaptées aux greffons stéatosiques. Il est peu probable que de tels projets soient promus par l'industrie. De larges études cliniques pour valider les solutions de préservation sont souhaitables. Toutefois, elles impliquent un nombre élevé de malades et une période d'observation prolongée, ce qui limite la faisabilité.

Des projets de recherche destinés à mieux comprendre les interactions entre l'âge du donneur et la récurrence de l'hépatite C sont également nécessaires. Ils pourraient éventuellement déboucher sur des interventions spécifiques. Il semble souhaitable d'impliquer plus fortement des unités de recherche en biologie cellulaire et en virologie.

L'immunologie est largement représentée dans les thèmes de recherche fondamentale en transplantation rénale. Il n'est pas certain qu'une implication similaire ait un intérêt déterminant en transplantation hépatique. Toutefois, il serait utile de mieux définir quelles avancées pourrait offrir, a priori, la

recherche fondamentale en immunologie dans le domaine des greffons hépatiques marginaux.

Il reste une multitude de situations rares ou ponctuelles telles que les donneurs ayant un antécédent de cancer, les donneurs ayant une infection ou la transplantation en domino à partir de donneurs ayant une neuropathie amyloïde familiale. Pour ces situations, l'évaluation des résultats à partir de bases de données aussi larges que possible est indispensable. L'analyse des données du registre UNOS aux États-Unis a permis de répondre à de nombreuses questions pratiques dans ce domaine. Le registre UNOS a également donné lieu à de nombreuses publications scientifiques dont certaines ont eu un impact déterminant en transplantation hépatique. On peut regretter que les données de l'Agence de la biomédecine n'aient été que peu exploitées. Les conditions d'exploitation de ces données devraient être discutées afin de favoriser les travaux scientifiques. Un score de risque des donneurs a été proposé sur la base de données nord américaine. Ce score est difficilement applicable tel quel en Europe. Il est souhaitable de créer un score de risque à partir des données européennes. La question de l'attribution optimale des donneurs marginaux à certaines catégories de receveurs reste ouverte. Si l'on dispose d'un score de risque des donneurs robuste et de bases de données suffisamment larges, on peut tenter de répondre à cette question par des techniques de modélisation statistique. Des propositions concrètes (algorithmes) concernant l'attribution optimale des donneurs marginaux pourraient être alors proposées.

**En conclusion**, la question spécifique des donneurs marginaux en transplantation hépatique est en lien direct avec des questions beaucoup plus générales concernant les maladies du foie et des voies biliaires : la stéatose, la régénération hépatocytaire, la microcirculation, l'ischémie biliaire, le vieillissement. La transplantation est un modèle unique pour apporter des avancées à ces questions générales, justifiant des études cliniques et fondamentales.

## BIBLIOGRAPHIE

ABT PL, DESAI NM, CRAWFORD MD, FORMAN LM, MARKMANN JW, et coll. Survival following liver transplantation from non-heart-beating donors. *Ann Surg* 2004, **239** : 87-92

ADAM R, CAILLIEZ V, MAJNO P, KARAM V, MCMASTER P, et coll. Normalised intrinsic mortality risk in liver transplantation: European Liver Transplant Registry study. *Lancet* 2000, **356** : 621-627

BELZER FO, SOUTHARD JH. Organ preservation and transplantation. *Prog Clin Biol Res* 1986, **224** : 291-303

BELZER FO, D'ALESSANDRO AM, HOFFMANN RM, KNECHTLE SJ, REED A, et coll. The use of UW solution in clinical transplantation. A 4-year experience. *Ann Surg* 1992, **215** : 579-583. discussion 584-575

BEN MOSBAH I, ROSELLO-CATAFAU J, FRANCO-GOU R, ABDENNEBI HB, SAIDANE D, et coll. Preservation of steatotic livers in IGL-1 solution. *Liver Transpl* 2006, **12** : 1215-1223

BERENGUER M. What determines the natural history of recurrent hepatitis C after liver transplantation? *J Hepatol* 2005, **42** : 448-456

BERENGUER M, PRIETO M, SAN JUAN F, RAYON JM, MARTINEZ F, et coll. Contribution of donor age to the recent decrease in patient survival among HCV-infected liver transplant recipients. *Hepatology* 2002, **36** : 202-210

BERG CL, GILLESPIE BW, MERION RM, BROWN RS JR, ABECASSIS MM, et coll. Improvement in survival associated with adult-to-adult living donor liver transplantation. *Gastroenterology* 2007, **133** : 1806-1813

BUJELL JF, ALLOWAY RR, STEVE WOODLE E. How can donors with a previous malignancy be evaluated? *J Hepatol* 2006, **45** : 503-507

BURDELSKI MM, ROGIERS X. What lessons have we learned in pediatric liver transplantation? *J Hepatol* 2005, **42** : 28-33

BURROUGHS AK, SABIN CA, ROLLES K, DELVART V, KARAM V, et coll. 3-month and 12-month mortality after first liver transplant in adults in Europe: predictive models for outcome. *Lancet* 2006, **367** : 225-232

CAMERON AM, GHOBRIAL RM, YERSIZ H, FARMER DG, LIPSHUTZ GS, et coll. Optimal utilization of donor grafts with extended criteria: a single-center experience in over 1000 liver transplants. *Ann Surg* 2006, **243** : 748-753. discussion 753-755

CANELO R, BRAUN F, SATTLER B, KLINGE B, LORF T, et coll. Is a fatty liver dangerous for transplantation? *Transplant Proc* 1999, **31** : 414-415

CAVALLARI A, CILLO U, NARDO B, FILIPPONI F, GRINGERI E, et coll. A multicenter pilot prospective study comparing Celsior and University of Wisconsin preserving solutions for use in liver transplantation. *Liver Transpl* 2003, **9** : 814-821

CERUTTI E, STRATTA C, ROMAGNOLI R, SERRA R, LEPORE M, et coll. Bacterial- and fungal-positive cultures in organ donors: clinical impact in liver transplantation. *Liver Transpl* 2006, **12** : 1253-1259

CHAN SC, FAN ST, LO CM, LIU CL, WONG J. Toward current standards of donor right hepatectomy for adult-to-adult live donor liver transplantation through the experience of 200 cases. *Ann Surg* 2007, **245** : 110-117

D'ALESSANDRO AM, KALAYOGLU M, SOLLINGER HW, HOFFMANN RM, REED A, et coll. The predictive value of donor liver biopsies on the development of primary non-function after orthotopic liver transplantation. *Transplant Proc* 1991, **23** : 1536-1537

D'AMICO G, GARCIA-TSAO G, PAGLIARO L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. *J Hepatol* 2006, **44** : 217-231

DESHPANDE R, HEATON N. Can non-heart-beating donors replace cadaveric heart-beating liver donors? *J Hepatol* 2006, **45** : 499-503

DICKSON RC, EVERHART JE, LAKE JR, WEI Y, SEABERG EC, et coll. Transmission of hepatitis B by transplantation of livers from donors positive for antibody to hepatitis B core antigen. The National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Liver Transplantation Database. *Gastroenterology* 1997, **113** : 1668-1674

DONDERO F, FARGES O, BELGHITI J, FRANCOZ C, SOMMACALE D, et coll. A prospective analysis of living-liver donation shows a high rate of adverse events. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2006, **13** : 117-122

DURAND F, VALLA D. Assessment of prognosis of cirrhosis. *Semin Liver Dis* 2008, **28** : 110-122

ELTR. 2007, <http://www.eltr.org>.

FAPWTR. Familial Amyloidotic Polyneuropathy World Transplant Registry, 2007 <http://www.fapwtr.org>

FENG L, ZHAO N, YAO X, SUN X, DU L, et coll. Histidine-tryptophan-ketoglutarate solution vs. University of Wisconsin solution for liver transplantation: a systematic review. *Liver Transpl* 2007, **13** : 1125-1136

FENG S, GOODRICH NP, BRAGG-GRESHAM JL, DYKSTRA DM, PUNCH JD, et coll. Characteristics associated with liver graft failure: the concept of a donor risk index. *Am J Transplant* 2006, **6** : 783-790

FISHBEIN TM, FIEL MI, EMRE S, CUBUKCU O, GUY SR, et coll. Use of livers with microvesicular fat safely expands the donor pool. *Transplantation* 1997, **64** : 248-251

FRANKEL WL, TRANOVICH JG, SALTER L, BUMGARDNER G, BAKER P. The optimal number of donor biopsy sites to evaluate liver histology for transplantation. *Liver Transpl* 2002, **8** : 1044-1050

FREEMAN RB, GIATRAS I, FALAGAS ME, SUPRAN S, O'CONNOR K, et coll. Outcome of transplantation of organs procured from bacteremic donors. *Transplantation* 1999, **68** : 1107-1111

FREEMAN RB JR, STEFFICK DE, GUIDINGER MK, FARMER DG, BERG CL, MERION RM. Liver and intestine transplantation in the United States, 1997-2006. *Am J Transplant* 2008, **8** : 958-976

HERLENIUS G, WILCZEK HE, LARSSON M, ERICZON BG. Ten years of international experience with liver transplantation for familial amyloidotic polyneuropathy: results from the Familial Amyloidotic Polyneuropathy World Transplant Registry. *Transplantation* 2004, **77** : 64-71

HOWDEN BO, JABLONSKI P. Liver preservation: a comparison of celsior to colloid-free University of Wisconsin solution. *Transplantation* 2000, **70** : 1140-1142

HUMAR A, RAMCHARAN T, SIELAFF TD, KANDASWAMY R, GRUENNER RW, et coll. Split liver transplantation for two adult recipients: an initial experience. *Am J Transplant* 2001, **1** : 366-372

HWANG S, LEE SG, LEE YJ, SUNG KB, PARK KM, et coll. Lessons learned from 1,000 living donor liver transplantations in a single center: how to make living donations safe. *Liver Transpl* 2006, **12** : 920-927

IMBER CJ, ST PETER SD, LOPEZ I, GUIVER L, FRIEND PJ. Current practice regarding the use of fatty livers: a trans-Atlantic survey. *Liver Transpl* 2002, **8** : 545-549

JIMENEZ ROMERO C, MORENO GONZALEZ E, COLINA RUIZ F, PALMA CARAZO F, LOINAZ SEGUROLA C, et coll. Use of octogenarian livers safely expands the donor pool. *Transplantation* 1999, **68** : 572-575

KAUFFMAN HM, MCBRIDE MA, DELMONICO FL. First report of the United Network for Organ Sharing Transplant Tumor Registry: donors with a history of cancer. *Transplantation* 2000, **70** : 1747-1751

KAUFFMAN HM, MCBRIDE MA, CHERIKH WS, SPAIN PC, DELMONICO FL. Transplant tumor registry: donors with central nervous system tumors<sup>1</sup>. *Transplantation* 2002, **73** : 579-582

KAWASAKI S. Left lobe living donor liver transplantation: technical considerations. *Transplant Proc* 2003, **35** : 952

LIU CL, FAN ST, LO CM, WEI WI, CHAN SC, et coll. Operative outcomes of adult-to-adult right lobe live donor liver transplantation: a comparative study with cadaveric whole-graft liver transplantation in a single center. *Ann Surg* 2006, **243** : 404-410

LOPEZ-NAVIDAD A, DOMINGO P, CABALLERO F, GONZALEZ C, SANTIAGO C. Successful transplantation of organs retrieved from donors with bacterial meningitis. *Transplantation* 1997, **64** : 365-368

LUMBRERAS C, SANZ F, GONZALEZ A, PEREZ G, RAMOS MJ, et coll. Clinical significance of donor-unrecognized bacteremia in the outcome of solid-organ transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2001, **33** : 722-726

LUTZ-DETTINGER N, DE JAEGER A, KERREMANS I. Care of the potential pediatric organ donor. *Pediatr Clin North Am* 2001, **48** : 715-749

MALUF DG, EDWARDS EB, KAUFFMAN HM. Utilization of extended donor criteria liver allograft: Is the elevated risk of failure independent of the model for end-stage liver disease score of the recipient? *Transplantation* 2006, **82** : 1653-1657

MCCORMACK L, PETROWSKY H, JOCHUM W, MULLHAUPT B, WEBER M, CLAVIEN PA. Use of severely steatotic grafts in liver transplantation: a matched case-control study. *Ann Surg* 2007, **246** : 940-946. discussion 946-948

MUIESAN P, GIRLANDA R, JASSEM W, MELENDEZ HV, O'GRADY J, et coll. Single-center experience with liver transplantation from controlled non-heartbeating donors: a viable source of grafts. *Ann Surg* 2005, **242** : 732-738

MUTIMER DJ, GUNSON B, CHEN J, BERENQUER J, NEUHAUS P, et coll. Impact of donor age and year of transplantation on graft and patient survival following liver transplantation for hepatitis C virus. *Transplantation* 2006, **81** : 7-14

NARDO B, MASETTI M, URBANI L, CARACENI P, MONTALTI R, et coll. Liver transplantation from donors aged 80 years and over: pushing the limit. *Am J Transplant* 2004, **4** : 1139-1147

- NEUBERGER J. Developments in liver transplantation. *Gut* 2004, **53** : 759-768
- NOUJAIM HM, GUNSON B, MAYER DA, MIRZA DF, BUCKELS JA, et coll. Worth continuing doing ex situ liver graft splitting? A single-center analysis. *Am J Transplant* 2003, **3** : 318-323
- OLTHOFF KM, MERION RM, GHOBRIAL RM, ABECASSIS MM, FAIR JH, et coll. Outcomes of 385 adult-to-adult living donor liver transplant recipients: a report from the A2ALL Consortium. *Ann Surg* 2005, **242** : 314-323. discussion 323-315
- PIRATVISUTH T, TREDGER JM, HAYLLAR KA, WILLIAMS R. Contribution of true cold and rewarming ischemia times to factors determining outcome after orthotopic liver transplantation. *Liver Transpl Surg* 1995, **1** : 296-301
- PLOEG RJ, D'ALESSANDRO AM, KNECHTLE SJ, STEGALL MD, PIRSCH JD, et coll. Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation-a multivariate analysis. *Transplantation* 1993, **55** : 807-813
- POMPOSELLI JJ, VERBESEY J, SIMPSON MA, LEWIS WD, GORDON FD, et coll. Improved survival after live donor adult liver transplantation (LDALT) using right lobe grafts: program experience and lessons learned. *Am J Transplant* 2006, **6** : 589-598
- RENZ JF, EMOND JC, YERSIZ H, ASCHER NL, BUSUTTIL RW. Split-liver transplantation in the United States: outcomes of a national survey. *Ann Surg* 2004, **239** : 172-181
- ROSENDALE JD, KAUFFMAN HM, MCBRIDE MA, CHABALEWSKI FL, ZAROFF JG, et coll. Hormonal resuscitation yields more transplanted hearts, with improved early function. *Transplantation* 2003, **75** : 1336-1341
- SALIM A, VASSILIU P, VELMAHOS GC, SAVA J, MURRAY JA, et coll. The role of thyroid hormone administration in potential organ donors. *Arch Surg* 2001, **136** : 1377-1380
- SCHAUBEL DE, SIMA CS, GOODRICH NP, FENG S, MERION RM. The survival benefit of deceased donor liver transplantation as a function of candidate disease severity and donor quality. *Am J Transplant* 2008, **8** : 419-425
- SELZNER M, CLAVIEN PA. Fatty liver in liver transplantation and surgery. *Semin Liver Dis* 2001, **21** : 105-113
- SOEJIMA Y, TAKETOMI A, IKEGAMI T, YOSHIZUMI T, UCHIYAMA H, et coll. Living donor liver transplantation using dual grafts from two donors: a feasible option to overcome small-for-size graft problems? *Am J Transplant* 2008, **8** : 887-892
- SOMMACALE D, FARGES O, ETTORRE GM, LEBIGOT P, SAUVANET A, et coll. In situ split liver transplantation for two adult recipients. *Transplantation* 2000, **69** : 1005-1007
- TOME S, WELLS JT, SAID A, LUCEY MR. Quality of life after liver transplantation. A systematic review. *J Hepatol* 2008, **48** : 567-577
- TROTTER JF, WACHS M, EVERSON GT, KAM I. Adult-to-adult transplantation of the right hepatic lobe from a living donor. *N Engl J Med* 2002, **346** : 1074-1082
- UNOS. 2007, <http://www.unos.org>.



URENA MA, RUIZ-DELGADO FC, GONZALEZ EM, SEGUROLA CL, ROMERO CJ, et coll. Assessing risk of the use of livers with macro and microsteatosis in a liver transplant program. *Transplant Proc* 1998, **30** : 3288-3291

VARGAS HE, LASKUS T, WANG LF, LEE R, RADKOWSKI M, et coll. Outcome of liver transplantation in hepatitis C virus-infected patients who received hepatitis C virus-infected grafts. *Gastroenterology* 1999, **117** : 149-153

VELIDEDEOGLU E, DESAI NM, CAMPOS L, OLTHOFF KM, SHAKED A, et coll. The outcome of liver grafts procured from hepatitis C-positive donors. *Transplantation* 2002, **73** : 582-587

VERRAN D, KUSYK T, PAINTER D, FISHER J, KOOREY D, et coll. Clinical experience gained from the use of 120 steatotic donor livers for orthotopic liver transplantation. *Liver Transpl* 2003, **9** : 500-505

WALI M, HARRISON RF, GOW PJ, MUTIMER D. Advancing donor liver age and rapid fibrosis progression following transplantation for hepatitis C. *Gut* 2002, **51** : 248-252

WILHELM MJ, PRATSCHKE J, LASKOWSKI IA, PAZ DM, TILNEY NL. Brain death and its impact on the donor heart-lessons from animal models. *J Heart Lung Transplant* 2000, **19** : 414-418

WILMS C, WALTER J, KAPTEIN M, MUELLER L, LENK C, et coll. Long-term outcome of split liver transplantation using right extended grafts in adulthood: a matched pair analysis. *Ann Surg* 2006, **244** : 865-872. discussion 872-863

YAMAMOTO S, WILCZEK HE, NOWAK G, LARSSON M, OKSANEN A, et coll. Liver transplantation for familial amyloidotic polyneuropathy (FAP): a single-center experience over 16 years. *Am J Transplant* 2007, **7** : 2597-2604

YERSIZ H, SHAKED A, OLTHOFF K, IMAGAWA D, SHACKLETON C, et coll. Correlation between donor age and the pattern of liver graft recovery after transplantation. *Transplantation* 1995, **60** : 790-794

ZAMBONI F, FRANCHELLO A, DAVID E, ROCCA G, RICCHIUTI A, et coll. Effect of macrovesicular steatosis and other donor and recipient characteristics on the outcome of liver transplantation. *Clin Transplant* 2001, **15** : 53-57

# 13

## Transplantation cardiaque : optimisation du pool de donneurs

Le succès de la transplantation cardiaque ne se dément pas. On dénombre plus de 2 000 greffes cardiaques en France ces huit dernières années et une file d'attente chaque année d'environ 700 patients. En 2007, 366 transplantations cardiaques ont été réalisées et 750 patients ont été inscrits sur liste d'attente ; deux cent soixante six malades restaient inscrits au début 2008<sup>18</sup>. Le registre international de la Société de transplantation cardio-pulmonaire<sup>19</sup> recense depuis le début des programmes de greffe plus de 70 000 greffes cardiaques. La médiane de survie du receveur est de 10,8 ans après la transplantation et de 13 ans pour les patients ayant passé la première année. On estime aujourd'hui que la survie à 10 ans des patients transplantés actuellement avoisinera les 70 %. Les progrès de la cardiologie permettent à une population de malades de plus en plus nombreuse de survivre et de prétendre à la transplantation soit directement, soit au décours d'une assistance circulatoire mécanique. Malgré ces succès, on dénombre chaque année 2 fois plus de patients en attente de greffe cardiaque que de patients réellement transplantés ; 10 % d'entre eux décèderont sans avoir eu accès à la greffe. Malgré les restructurations, l'activité de don et de prélèvement ne comble pas la demande. Nous sommes donc face à une pénurie d'organe et l'optimisation de l'accès à la greffe cardiaque passe par une optimisation du pool de donneurs, optimisation de la sélection des receveurs et optimisation de la protection de l'organe à prélever.

Le cœur est un organe qui va poser un certain nombre de conditions préalables spécifiques à son prélèvement. Organe unique, et très sensible à l'ischémie, son évaluation et sa résistance à l'ischémie/reperfusion (I/R) vont en limiter l'utilisation. Pour compenser la faible disponibilité des greffons, les équipes de prélèvement ont défini des conditions optimales et des situations conduisant au prélèvement d'un organe dit limite ou marginal.

---

18. Voir le bilan 2007 des activités de prélèvement et de greffe cardiaque en France à l'adresse suivante : [http://www.agence-biomedecine.fr/fr/rapport\\_2007](http://www.agence-biomedecine.fr/fr/rapport_2007)

19. <http://www.ishlt.org/registries/heartLungRegistry.asp>

## État de la pénurie

Les centres français de transplantation ont réalisé en 2007, 366 greffes cardiaques. Il y a cependant plus de 700 patients en attente de greffe et un nombre croissant de nouveaux inscrits (392 en 2003 *versus* 510 en 2007). Au travers des 7 inter-régions françaises, on dénombre de 1,5 à 3,3 receveurs en attente d'un même cœur. Pourtant, ce ne sont pas les prélèvements d'organes qui diminuent. Le rapport de l'Agence de la biomédecine rapporte qu'en 2007 le nombre total de prélèvements a augmenté de plus de 8 %. À l'inverse, le pourcentage de donneurs dont le cœur a été prélevé a baissé de 31,5 % à 27,3 %. Parallèlement, plus de 96 % et 70 % des donneurs ont respectivement pu être prélevés de leurs reins et de leur foie. La principale raison expliquant cette difficulté d'obtention de greffon cardiaque est la progression de l'âge des donneurs recensés. Avec un âge moyen en 2007 de 50 ans, le cœur du donneur type a plus de risque d'être déjà porteur de lésions tissulaires myocardiques ou coronaires et d'être particulièrement sensible aux conditions de prélèvement et de transplantation. Après une description des conséquences myocardiques de la mort encéphalique, l'objectif de ce chapitre est d'évaluer les limites et les possibilités d'augmentation du nombre de cœurs disponibles au prélèvement en optimisant donneur et organe.

## Conséquences cardiovasculaires de la mort encéphalique

Les données expérimentales ont montré que la brutalité de la mort encéphalique affectait la physiologie du myocarde notamment en raison de l'orage catécholergique (Novitzky et coll., 1984 ; Mertes et coll., 1994a et b). Lors d'une mort encéphalique, les concentrations circulantes de dopamine, adrénaline et noradrénaline augmentent respectivement de 800 %, 700 % et 100 % (van Loon et coll., 1993 ; Smith, 2004). La description de lésions myocytaires causées par un processus ischémique (*Contraction Band Necrosis*) suivant les pulses catécholergiques ont ainsi été rapportées (Shivalkar et coll., 1993 ; Halejcio-Delophont et coll., 1998 ; Chiari et coll., 2000). Cette version reste cependant débattue (Christé et coll., 2006). Toutefois contrairement aux autres organes, le processus même de la mort encéphalique est susceptible d'induire une modification du myocarde et de perturber l'évaluation et la sélection du donneur. La principale altération est une diminution de la contractilité ventriculaire gauche (Szabó et coll., 2004), l'appréciation de sa réversibilité est la clé du bon choix. Il est ainsi essentiel de prendre en compte ces modifications potentielles avant de conclure sur la compatibilité ou non du cœur du donneur avec le projet de transplantation.

## Orage catécholergique : conséquences myocardiques

Trois phases se succèdent lors de l'engagement bulbaire préliminaire à la mort encéphalique. La première phase est dite d'hypertension intracrânienne. Elle se traduit par une hypertonie parasymphatique marquée par l'existence de crises neurovégétatives associées à des accès de tachycardie et d'hypertension artérielle. La deuxième phase est dite phase agonique terminale entourant la mort encéphalique et elle se traduit par une hypertonie sympathique. Puis s'installe la phase de mort encéphalique conduisant à l'interruption des afférences centrales, l'abolition complète du tonus parasymphatique, la diminution du tonus sympathique (existence de centres sympathiques médullaires cervicaux).

Les conséquences myocardiques de l'orage catécholergique seront : tachycardie par interruption du tonus cardiomodérateur, hypotension artérielle par vasoplégie en raison de la sympatholyse centrale (perte de la régulation centrale de la pression artérielle), baisse de la contractilité myocardique.

## Recommandations pour la gestion hormonale du donneur

Wheeldon a défini des paramètres hémodynamiques acceptables et a standardisé la stratégie de réanimation chez ces donneurs. Il distingue le donneur standard, celui nécessitant une réanimation hormonale et celui chez qui est indiquée une circulation extra-corporelle (Weeldon, 2004). Un donneur dont la pression artérielle est basse ( $< 60$  mmHg), les pressions veineuse centrale et capillaire pulmonaire élevées ( $> 10$  mmHg), l'index de travail ventriculaire gauche abaissé et les doses d'inotropes importantes est l'indication typique d'une réanimation hormonale. Celle-ci sera suivie d'une réévaluation permettant finalement d'autoriser ou non le prélèvement. Les recommandations ont été clairement exprimées par la Conférence de consensus de Crystal City en 2001 avec recours aux hormones thyroïdiennes, à la vasopressine, la méthyl prednisolone et l'insuline, puis validées prospectivement (Zaroff et coll., 2002 ; Rosendale et coll., 2003 ; Novitzky et coll., 2006). Plus récemment, le blocage bêta-adrénergique chez le donneur a été proposé par certains auteurs sur la base de travaux expérimentaux et cliniques (Seguin et coll., 2000 et 2001 ; McLean et coll., 2007 ; Pandalai et coll., 2008).

## Critères d'acceptabilité : jusqu'où les repousser

Pour augmenter la disponibilité des greffons cardiaques, les critères initiaux définissant des greffons idéaux ont été revus et élargis. La notion d'un

greffon cardiaque dit marginal est ainsi née. Les paragraphes suivants vont rapporter les limites qui ont été placées à cet élargissement (tableau 13.I).

**Tableau 13.I : Élargissement des critères de choix d'un donneur de cœur en vue de prélèvement d'après la Conférence de consensus Crystal City 2001 (d'après Rosengard et coll., 2002)**

Critères	Élargissement
Âge	Les donneurs de plus de 55 ans peuvent être utilisés occasionnellement sachant que la coexistence avec une hypertrophie ventriculaire gauche (HVG) et une ischémie prolongée augmente la probabilité de décès du receveur
Poids	Malgré un surcroît de risqué lié aux petits donneurs, le cœur d'un adulte de poids normal (70 kg) de sexe masculin conviendra à la plupart des receveurs
Hypertrophie ventriculaire gauche	Une hypertrophie ventriculaire gauche modérée (13 mm en échocardiographie sans HVG électrique) ne doit pas affecter la décision de prélèvement en particulier si l'ischémie est courte
Lésions valvulaires	Certaines lésions, comme une insuffisance mitrale ou tricuspide modérée ou une bicuspidie aortique sans fuite, peuvent être accessibles à une réparation <i>ex vivo</i> avant transplantation et n'affectent donc pas la décision de prélèvement
Lésions congénitales	Certaines lésions, telles qu'une communication interauriculaire de type <i>ostium secundum</i> peuvent être accessibles à une réparation <i>ex vivo</i> avant transplantation et n'affectent donc pas la décision de prélèvement
Angiographie coronaire	A. Donneur masculin d'âge 35-45 ans ou féminin d'âge 35-50 ans : indication de coronarographie en cas d'usage de cocaïne ou présence de 3 facteurs de risque cardiovasculaires B. Donneur masculin d'âge 46-55 ans ou féminin d'âge 51-55 ans : coronarographie recommandée C. Donneur d'âge > 55 ans : coronarographie fortement recommandée
Coronaropathie avérée	Les donneurs avec coronaropathie avérée modérée doivent être réservés aux receveurs en menace vitale à court terme

## Âge du donneur

L'âge des donneurs a nettement augmenté ces 15 dernières années. L'âge moyen est actuellement au-dessus de 30 ans, et 8 % des donneurs ont plus de 50 ans (Registre de la Société internationale de transplantation cardiaque et pulmonaire, 2008). Alors qu'il y a peu de variation dans l'âge des receveurs, il existe même une variation géographique pour les donneurs de cœur puisque c'est en Europe que la proportion de donneurs âgés est la plus forte : 19,6 % des donneurs ont dépassé 50 ans contre seulement 10 % aux États-Unis (Registre de la Société internationale de transplantation cardiaque et pulmonaire, 2008). Cette progression a été bien décrite par Lietz et coll. (2004).

Le jeune âge du donneur est un critère bien établi de succès au long cours de la transplantation cardiaque et l'âge apparaît dans le Registre international comme un facteur de risque de mortalité à 5 et 10 ans post-transplantation (Taylor et coll., 2008). Il reste qu'une transplantation cardiaque même avec un donneur âgé est préférable à l'absence de greffe (Lietz et coll., 2004) et qu'il faut prendre en compte des facteurs associés pour apprécier correctement le pronostic. Une longue durée d'ischémie ou une hypertrophie ventriculaire gauche rend plus péjoratif le pronostic d'une greffe avec donneur âgé (Russo et coll., 2007). En opposition, Blanche et coll. (2002) n'ont pas rapporté de différence de survie entre une cohorte de patients greffés avec des organes provenant de donneurs de plus de 50 ans *versus* moins. Pour Mercer et coll. (1998), la survie n'est également pas différente entre deux cohortes de receveurs ayant reçu des cœurs de donneurs de plus ou de moins de 49 ans. En revanche, ils rapportent une incidence supérieure de maladie vasculaire du greffon en cas de donneur âgé (Mercer et coll., 1998). Cependant, les premières publications de Gao et coll. (1997) ou l'étude récente publiée par Reiss et coll. (2007) avec des protocoles thérapeutiques actuels ne retrouvent pas cette influence sur la maladie vasculaire du greffon.

Le donneur âgé expose le greffon à l'existence de lésions coronariennes qui grèveront le pronostic du receveur. L'appréciation de l'intégrité du réseau coronarien du cœur du donneur âgé est donc un préliminaire indispensable à son utilisation faute de sous-estimer la présence de ces lésions vasculaires (Walker et coll., 2004 ; Grauhan et coll., 2007). La méthode de référence est l'angiographie coronaire. Ses limitations sont d'ordre logistique (difficulté de déplacement du donneur souvent instable, disponibilité d'équipes de coronarographistes...). Des organisations spécifiques doivent être mises en place dans les centres préleveurs pour tirer partie de ce pool de donneurs âgés. D'autres auteurs ont proposé l'utilisation de l'échographie de stress sous dobutamine (Arpesella et coll., 2006) mais cet examen pourrait cumuler difficultés techniques et incertitude diagnostique. Weng et coll. (2008) ont rapporté un cas d'angiographie coronaire *ex vivo* du greffon ; ceci pourrait répondre à certaines situations où l'angiographie coronaire conventionnelle s'avérerait impossible à réaliser pour des raisons logistiques ; les auteurs n'évoquent cependant pas la prolongation de l'ischémie induite par leur évaluation.

### Durée de l'ischémie

La durée de l'ischémie est depuis les années 1970 un déterminant établi de la souffrance myocardique. Le cœur est en effet extrêmement sensible à l'ischémie et sujet à la nécrose cellulaire en quelques minutes même en l'absence de contraction (Jennings et coll., 1990). Les données du Registre international de la Société de transplantation cardiaque et pulmonaire (2008) confirment la valeur pronostique de la durée d'ischémie sur la survie

à 5 et 10 ans. Toutefois, Russo et coll. (2007) ont établi à partir des données de l'*United Network for Organ Sharing database*, l'importance de l'intégration de cette donnée de durée dans l'ensemble des facteurs influençant la qualité du greffon, notamment l'âge. L'association donneur âgé et longue durée d'ischémie paraît la plus péjorative.

### **Poids du donneur et du receveur**

Le poids du receveur, le poids du donneur et le ratio de poids donneur/receveur constituent des facteurs conditionnant le pronostic de la greffe cardiaque. Un receveur de poids bas ou trop élevé et un greffon venant d'un donneur sous-dimensionné par rapport au receveur ne sont pas favorables à la survie du greffé. L'idéal est un ratio proche de 1. Toutefois là encore, ce paramétrage est à faire en fonction de l'ensemble des données du receveur. De Meester et coll. (2001) ont démontré que plus l'instabilité hémodynamique du receveur était importante, moins il existait de marge dans la tolérance d'un ratio des poids donneurs/receveurs inadapté.

### **Évaluation de la dysfonction myocardique du donneur**

La définition de la dysfonction myocardique du donneur est difficile à apporter. Pourtant, il semble que 25 à 50 % des cœurs refusés au prélèvement le soient pour une échocardiographie jugée insatisfaisante (Zaroff, 2004). La Conférence de consensus de Crystal City rapportée par Zaroff et coll. (2002) fixe à 45 % le seuil de FEVG (fraction d'éjection ventriculaire gauche) distinguant la fonction systolique normale du donneur de celle dite anormale. La contractilité ventriculaire gauche est cependant altérée chez le donneur par la modification des conditions hémodynamiques liées à la mort encéphalique (orage catécholergique), aux variations de pré- et post-charge ventriculaire et à la gestion hormonale du donneur. Zaroff et coll. (2003) ont ainsi établi que la fraction d'éjection ventriculaire gauche est un paramètre variable dans le temps et modifiable par les conditions de réanimation du donneur. Audibert et coll. (2006) et Boudaa et coll. (2000) ont rapporté l'intérêt du traitement de l'orage catécholergique du donneur pour améliorer les fonctions cardiaques et favoriser le prélèvement cardiaque.

### **Nouvelles pistes pour optimiser le pool des donneurs cardiaques**

Différentes pistes sont maintenant explorées mais leur application reste délicate.

## Donneur de cœur à cœur arrêté

La possibilité de prélever des cœurs de jeunes donneurs après un arrêt cardiocirculatoire réanimé a été évoquée dès 2000 par Livi et Caforio (2000). Ali et coll. (2007) ont rapporté une série de 38 patients transplantés malgré un arrêt cardiocirculatoire du donneur. Sur une longue période d'observation (1991-2006), ils n'ont pas observé de différence de survie entre les populations de patients greffés avec un cœur ayant subi ou non un arrêt cardiaque. Malgré sa probable faisabilité avec une sélection attentive des donneurs et des receveurs et des méthodes optimisées de préservation et d'évaluation des greffons, cette stratégie pose de fortes questions éthiques (Veatch, 2008) et requiert des évaluations supplémentaires.

## Prévention des lésions de reperfusion

L'ischémie/reperfusion comprend bien la phase d'ischémie qu'il convient de réduire au mieux, mais elle comprend aussi la reperfusion. Après de longues années de débat, il est maintenant établi que la reperfusion par elle-même est susceptible de générer des lésions myocardiques définitives (voir chapitre « Syndrome d'I/R et préservation en transplantation cardiaque»). Ce concept de lésion de reperfusion (Yellon et Hausenloy, 2007) a amené à envisager un traitement du greffon avant sa transplantation, dans le but d'augmenter sa tolérance à l'ischémie/reperfusion. Plus applicable que le préconditionnement (traitement avant prélèvement du greffon) (Koerner, 2007), le postconditionnement (intervention avant remise en charge finale du greffon) améliore les fonctions du cœur de rat ischémié en hypothermie pendant 4 heures et cardioplégé (Lauzier et coll., 2007). Son application chez le patient n'a pour l'instant concerné que la protection contre l'infarctus (Piot et coll., 2008) et des résultats en transplantation sont attendus.

## Machines de perfusion

Cette technologie en développement devrait permettre de réduire la durée de l'ischémie des greffons et d'assurer leur évaluation. Les machines de perfusion devraient rendre accessibles au prélèvement un certain nombre d'organes jusqu'alors rejetés. Plus avancées dans leur évaluation en prélèvement rénal, elles font actuellement l'objet d'actives recherches en transplantation cardiaque (Peltz et coll., 2008 ; Collins et coll., 2008).

**En conclusion**, face à la difficulté d'obtention de greffons cardiaques et à une population en attente de transplantation de plus en plus fragilisée, des propositions peuvent être faites. Sans cesser d'améliorer le fonctionnement de la filière de prélèvement, il est nécessaire de standardiser et optimiser la



réanimation du patient en état de mort encéphalique en prenant en compte la physiopathologie de la mort encéphalique. L'application des recommandations sur la réanimation hormonale des donneurs devra devenir effective au niveau des centres de prélèvement et leur validation confirmée sur de larges populations. Afin d'envisager un élargissement des critères d'attribution des greffons, les limites établies peuvent être repoussées. Il faut intégrer dans la décision de prélèvement l'état clinique du receveur potentiel, discuter la valeur de chacun des paramètres fonctionnels recueillis et optimiser l'hémodynamique du donneur. Le développement des stratégies de pré-, postconditionnement et de transport protégé du greffon est nécessaire pour améliorer la protection du greffon avant, pendant et après son prélèvement.

## BIBLIOGRAPHIE

ALI A, LIM E, THANIKACHALAM M, SUDARSHAN C, WHITE P, et coll. Cardiac arrest in the organ donor does not negatively influence recipient survival after heart transplantation. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery* 2007, **31** : 929-933

ARPESELLA G, GHERARDI S, BOMBARDINI T, PICANO E. Recruitment of aged donor heart with pharmacological stress echo. A case report. *Cardiovasc Ultrasound* 2006, **24** : 3

AUDIBERT G, CHARPENTIER C, SEGUIN-DEVAUX C, CHARRETIER PA, GRÉGOIRE H, et coll. Improvement of donor myocardial function after treatment of autonomic storm during brain death. *Transplantation* 2006, **82** : 1031-1036

BLANCHE C, KAMLOT A, BLANCHE D, KEARNEY B, MAGLIATO KE, et coll. Heart transplantation with donors fifty years of age and older. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002, **123** : 810-815

BOUDAA C, LALOT J, PERRIER J, VOLTZ C, STRUB P, et coll. Evaluation of donor cardiac function for heart transplantation: experience of a French academic hospital. *Ann Transplant* 2000, **5** : 51-53

CHIARI P, HADOUR G, MICHEL P, PIRIOU V, RODRIGUEZ C, et coll. Biphasic response after brain death induction: prominent part of catecholamines release in this phenomenon. *J Heart Lung Transplant* 2000, **19** : 675-682

CHRISTÉ G, HADOUR G, OVIZE M, FERRERA R. Brain death does not change epicardial action potentials and their response to ischemia-reperfusion in open-chest pigs. *J Heart Lung Transplant* 2006, **25** : 847-853

COLLINS M, MOAINIE S, GRIFFITH B, POSTON R. Preserving and evaluating hearts with ex vivo machine perfusion: an avenue to improve early graft performance and expand the donor pool. *Eur J Cardiothorac Surg* 2008, **34** : 318-325

DE MEESTER J, SMITS J, RUTGERINK E, PERSIJN G, HAVERICH A. Iso-risk curves as a tool for clinical decision-making: donor factors and medical urgency in cardiac transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2001, **20** : 1099-1105

GAO H, HUNT S, ALDERMAN E, LIANG D, YEUNG A, SCHROEDER J. Relation of donor age and preexisting coronary artery disease on angiography and intracoronary ultrasound to later development of accelerated allograft coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 1997, **29** : 623-629

GRAUHAN O, SINIAWSKI H, DANDEL M, LEHMKUHL H, KNOSALLA C, et coll. Coronary atherosclerosis of the donor heart-impact on early graft failure. *Eur J Cardiothorac Surg* 2007, **32** : 634-638

HALEJCIO-DELOPHONT P, SIAGHY E, DEVAUX Y, UNGUREANU-LONGROIS D, RICHOUX JP, et coll. Increase in myocardial interstitial adenosine and net lactate production in brain-dead pigs: an in vivo microdialysis study. *Transplantation* 1998, **66** : 1278-1284

JENNINGS RB, MURRY CE, STEENBERGEN CJ, REIMER KA. Development of cell injury in sustained acute ischemia. *Circulation* 1990, **82** (3 suppl) : II2-12

KOERNER M. Good news for donor hearts: postconditioning. *Transplantation* 2007, **84** : 1382-1383

LAUZIER B, SICARD P, BOUCHOT O, DELEMASURE S, MENETRIER F, et coll. After four hours of cold ischemia and cardioplegic protocol, the heart can still be rescued with postconditioning. *Transplantation* 2007, **84** : 1474-1482

LIETZ K, JOHN R, MANCINI D, EDWARDS N. Outcomes in cardiac transplant recipients using allografts from older donors versus mortality on the transplant waiting list implications for donor selection criteria. *J Am Coll Cardiol* 2004, **43** : 1553-1561

LIVI U, CAFORIO AL. Heart donor management and expansion of current donor criteria. *J Heart Lung Transplant* 2000, **19** (suppl 8) : S43-S48

MCLEAN K, PANDALAI P, PEARL J, BULCAO CF, LYONS JM, et coll. Beta-adrenergic receptor antagonism preserves myocardial function after brain death in a porcine model. *J Heart Lung Transplant* 2007, **26** : 522-528

MERCER P, SHARPLES L, EDMUNDS J, GITTINS R, BAINES J, et coll. Evaluating the donor pool: impact of using hearts from donors over the age of 49 years. *Transpl Int* 1998, **11** (suppl 1) : S424-S429

MERTES P, CARTEAUX J, JABOIN Y, PINELLI G, EL ABASSI K, et coll. Estimation of myocardial interstitial norepinephrine release after brain death using cardiac microdialysis. *Transplantation* 1994a, **57** : 371-377

MERTES P, EL ABASSI K, JABOIN Y, BURTIN P, PINELLI G, et coll. Changes in hemodynamic and metabolic parameters following induced brain death in the pig. *Transplantation* 1994b, **58** : 414-418

NOVITZKY D, WICOMB W, COOPER D. Electrocardiographic, haemodynamic and endocrine changes occurring during experimental brain death in the Chacma baboon. *Heart transplant* 1984, **4** : 63

NOVITZKY D, COOPER D, ROSENDALE J, KAUFFMAN H. Hormonal therapy of the brain-dead organ donor: experimental and clinical studies. *Transplantation* 2006, **82** : 1396-1401

PANDALAI P, MCLEAN K, BULCAO C, DUFFY JY, D'SOUZA KM, et coll. Acute Beta-blockade prevents myocardial beta-adrenergic receptor desensitization and preserves early ventricular function after brain death. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008, **135** : 792-798

PELTZ M, COBERT M, ROSENBAUM D, WEST L, JESSEN M. Myocardial perfusion characteristics during machine perfusion for heart transplantation. *Surgery* 2008, **144** : 225-232

PIOT C, CROISILLE P, STAAT P, THIBAUT H, RIOUFOL G, et coll. Effect of cyclosporine on reperfusion injury in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2008, **359** : 473-481

REISS N, LEPRINCE P, BONNET N, D'ALESSANDRO C, VARNOUS S, et coll. Results after orthotopic heart transplantation accepting donor hearts > 50 years: experience at La Pitie Salpêtrière, Paris. *Transplant Proc* 2007, **39** : 549-553

ROSENDALE J, KAUFFMAN M, MCBRIDE M, CHABALEWSKI FL, ZAROFF JG, et coll. Hormonal resuscitation yields more transplanted hearts with improved early function. *Transplantation* 2003, **75** : 1336-1341

ROSENGARD B, FENG S, ALFREY E, ZAROFF JG, EMOND JC, et coll. Report of the Crystal City meeting to maximize the use of organs recovered from the cadaver donor. *Am J Transplant* 2002, **2** : 701-711

RUSSO M, CHEN J, SORABELLA R, MARTENS TP, GARRIDO M, et coll. The effect of ischemic time on survival after heart transplantation varies by donor age: an analysis of the united network for organ sharing database. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007, **133** : 554-559

SEGUIN C, DEVAUX Y, AUBERT N, SIAGHY EM, ZANNAD F, et coll. Consequences of labetalol administration on myocardial beta adrenergic receptors in the brain dead pig. *Ann Transplant* 2000, **5** : 54-60

SEGUIN C, DEVAUX Y, GROSJEAN S, SIAGHY EM, MAIROSE P, et coll. Evidence of functional myocardial ischemia associated with myocardial dysfunction in brain-dead pigs. *Circulation* 2001, **104** (suppl 1) : I197-I201

SHIVALKAR B, VAN LOON J, WIELAND W, TJANDRA-MAGA TB, BORGERS M, et coll. Variable effects of explosive or gradual increase of intracranial pressure on myocardial structure and function. *Circulation* 1993, **87** : 230-239

SMITH M. Physiologic changes during brain stem death-lessons for management of the organ donor. *J Heart Lung Transplant* 2004, **23** : S217-S222

SZABÓ G. Physiologic changes after brain death. *J Heart Lung Transplant* 2004, **23** : S223-226

TANAKA K, LI H, CURRAN P, TAKANO Y, ARBIT B, et coll. Usefulness and safety of percutaneous coronary interventions for cardiac transplant vasculopathy. *Am J Cardiol* 2006, **97** : 1192

TAYLOR D, EDWARDS L, AURORA P, CHRISTIE JD, DOBBELS F, et coll. Registry of the international society for heart and lung transplantation: twenty-fifth official adult heart transplant report-2008. *J Heart Lung Transplant* 2008, **27** : 943-956

VAN LOON J, SHIVALKAR B, PLETS C, GOFFIN J, TJANDRA-MAGA T, FLAMENG W. Catecholamine response to a gradual increase of intracranial pressure. *J Neurosurg* 1993, **79** : 705-709

VEATCH RM. Donating hearts after cardiac death - Reversing the irreversible. *N Engl J Med* 2008, **359** : 672-673

WALKER A, FILDES J, LEONARD C, YONAN N. The influence of donor age on transplant coronary artery disease and survival post heart transplantation: is it safe to extend donor age? *Transplant Proc* 2004, **36** : 3139-3141

WENG C, CHANG C, LEE Y, SUE SH, LEE KC, et coll. Extending donor source with bench coronary angiography: a case report. *Transplant Proc* 2008, **40** : 2846-2847

WHEELDON D. Early physiologic measurements in the donor heart. *J Heart Lung Transplant* 2004, **23** : S247-S249

YELTON D, HAUSENLOY D. Myocardial reperfusion injury. *New Engl J Med* 2007, **357** : 1121-1135

ZAROFF J. Echocardiographic evaluation of the potential cardiac donor. *J Heart Lung Transplant* 2004, **23** : S250-252

ZAROFF J, ROSENGARD B, ARMSTRONG W, BABCOCK WD, D'ALESSANDRO A, et coll. Consensus conference report: Maximizing use of organs recovered from the cadaver donor: cardiac recommendations. *Circulation* 2002, **106** : 836-841

ZAROFF J, BABCOCK W, SHIBOSKI S, SOLINGER L, ROSENGARD B. Temporal changes in left ventricular systolic function in heart donors: results of serial echocardiography. *J Heart Lung Transplant* 2003, **22** : 383-388



# 14

## Transplantation pulmonaire : élargissement du pool de donneurs

Deux cent vingt-trois transplantations pulmonaires ont été réalisées en France en 2007, se répartissant en 154 transplantations bipulmonaires, 49 transplantations monopulmonaires et 20 transplantations cardio-pulmonaires (Agence de la biomédecine, 2007)<sup>20</sup>. Dans le même temps, 287 patients ont été inscrits sur liste, s'ajoutant aux 164 patients en attente à la fin de l'année précédente. Il existe donc une inadéquation entre le nombre de greffons pulmonaires proposés et le nombre de receveurs en attente de transplantation. Cette pénurie de greffons a pour conséquence une mortalité et des durées d'attente sur liste importantes.

En France, on estime qu'il faudrait entre 300 et 400 transplantations pulmonaires pour satisfaire la demande de greffons pulmonaires. Le même phénomène est rencontré dans les autres pays pratiquant la transplantation pulmonaire. Aux États-Unis par exemple, les temps d'attente sur liste sont compris entre 1 et 2 ans, avec des mortalités sur liste variant d'environ 15 % pour les patients souffrant de broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO), à 33 % pour les patients souffrant de fibrose pulmonaire idiopathique (Trulock et coll., 2007)<sup>21</sup>.

Plusieurs voies ont été ou sont en cours d'exploration pour remédier à cette pénurie de greffons pulmonaires. En transplantation pulmonaire, les sources potentielles de greffons sont les donneurs en état de mort encéphalique, les donneurs vivants et les donneurs à cœur arrêté. L'abord de la problématique du déséquilibre entre donneurs et receveurs implique aussi une réflexion sur le choix de la procédure optimale de transplantation (mono- ou bipulmonaire essentiellement) ainsi que sur le bien-fondé de l'indication de la transplantation.

---

20. Voir le bilan 2007 des activités de prélèvement et de greffe rénale en France à l'adresse suivante : [http://www.agence-biomedecine.fr/fr/rapport\\_2007](http://www.agence-biomedecine.fr/fr/rapport_2007)

21. Voir le site Internet de l'*International Society for Heart and Lung Transplantation* : <http://www.ishlt.com>

## **Donneurs en état de mort encéphalique**

Les donneurs en état de mort encéphalique sont à l'origine de la très grande majorité des transplantations pulmonaires pratiquées dans le monde, et l'unique source de greffons pulmonaires en France.

### **Recensement des donneurs en état de mort encéphalique**

Un travail important a été mené en France sur le recensement des sujets en état de mort encéphalique, en fournissant aux hôpitaux habilités à prélever, du personnel médical et paramédical dédié à cette activité. Cet effort s'est traduit par une augmentation considérable du nombre de sujets recensés en état de mort encéphalique qui est passé de 1 562 à 3 067 entre 1994 et 2006, et du nombre de sujets prélevés (de 876 à 1 442 pendant la même période). Le nombre de sujets prélevés atteint 24,7 donneurs prélevés par million d'habitants (pmh) (Agence de la biomédecine, 2007), plaçant la France au deuxième rang des pays européens derrière l'Espagne (33,8 pmh). En revanche, le taux d'opposition au prélèvement reste élevé et stable en France depuis de nombreuses années. Il est de 32 % en 2006, soit plus de 2 fois plus important que celui enregistré dans d'autres pays européens comme l'Espagne (15,2 %). Un important travail de sensibilisation est actuellement mené pour améliorer l'image du prélèvement dans la population et par là même diminuer le taux d'opposition au prélèvement.

### **Évaluation et prélèvement des donneurs en état de mort encéphalique**

Parmi les patients en état de mort encéphalique, moins de 15 % sont prélevés d'au moins un poumon. De nombreux facteurs compromettent la fonction pulmonaire et limitent le nombre de greffons qui pourront être ultérieurement prélevés. La cause du décès (traumatisme notamment) et les conséquences de la réanimation (infections nosocomiales) entraînent fréquemment une altération profonde de la fonction pulmonaire incompatible avec le prélèvement pulmonaire. La mort encéphalique est en elle-même une cause de détérioration de la fonction pulmonaire. L'orage catécholergique qui y est associé entraîne une vasoconstriction systémique responsable d'une augmentation de la post-charge ventriculaire gauche et de la pression auriculaire gauche. Cette vasoconstriction provoque une augmentation du retour veineux et du débit cardiaque droit. Ces phénomènes aboutissent à une redistribution de la masse sanguine vers la circulation pulmonaire et une augmentation de la pression capillaire pulmonaire, avec formation d'un œdème pulmonaire. Parallèlement, la stimulation adrénérgique augmente la perméabilité capillaire favorisant la formation d'œdème pulmonaire, et entraîne un syndrome systémique de réponse inflammatoire (SIRS), avec infiltration pulmonaire

massive par des polynucléaires neutrophiles participant aux altérations de la barrière alvéolo-membranaire. Un remplissage prudent, guidé par une mesure invasive des pressions de remplissage cardiaques, et l'utilisation de faibles doses d'arginine-vasopressine pourraient limiter les altérations de la fonction pulmonaire et augmenter le nombre de greffons pulmonaires prélevables. L'administration de corticostéroïdes en bolus et de tri-iodothyronine (T3) est courante, mais son impact sur la fonction du greffon pulmonaire est débattu.

Pour le transplantateur, l'acceptation d'un greffon en vue d'une transplantation est une décision difficile fondée sur des éléments souvent peu objectifs. Des critères de sélection ont été définis de manière parfaitement empirique dès le début de l'activité de transplantation (Orens et coll., 2003). L'élargissement de ces critères de sélection en 2003 a permis d'augmenter sensiblement (de 9,8 % en 2000 à 15,8 % en 2006) le nombre de patients prélevés d'un greffon pulmonaire ou cardiopulmonaire parmi les donneurs prélevés d'au moins un greffon. Cette proportion reste néanmoins nettement inférieure à celle enregistrée dans d'autres pays.

L'évaluation du donneur est particulièrement difficile en transplantation pulmonaire. En effet, et contrairement à d'autres transplantations d'organes (rein notamment), il n'existe pas de moyen simple d'évaluer la fonction pulmonaire chez un patient en état de mort encéphalique. Les éléments dont dispose le transplantateur au moment de l'acceptation d'un donneur sont des éléments anamnestiques (intoxication tabagique, antécédents médicaux et chirurgicaux pulmonaires), radiologiques (radiographie pulmonaire le plus souvent, scanner thoracique rarement) et gazométriques. La plupart du temps, ces paramètres sont mal renseignés (l'intoxication tabagique par exemple est difficile à évaluer précisément dans ces circonstances), mesurés dans des conditions mal standardisées (par exemple la mesure des échanges gazeux est très dépendante des conditions de mesure), et peu informatifs (les échanges gazeux mesurés en oxygène pur peuvent être acceptables alors même que le parenchyme pulmonaire est profondément altéré, cas de la BPCO par exemple). Indépendamment des limites que nous venons d'énoncer, l'impact de ces paramètres sur la fonction du greffon et la survie du receveur est parfaitement inconnu. De nombreuses études ont néanmoins tenté d'apporter des éléments de réponse à ces questions. La plupart ont comparé le devenir de patients recevant un greffon « idéal », c'est-à-dire remplissant tous les critères de sélection, à ceux de patients recevant un greffon « marginal », c'est-à-dire ne remplissant pas un ou plusieurs des critères de sélection (Sundaresan et coll., 1995 ; Bhorade et coll., 2000 ; Pierre et coll., 2002). Ces études posent trois problèmes méthodologiques majeurs qui les rendent anecdotiques. Premièrement, les critères de sélection des greffons ont évolué au cours du temps et varient d'un pays à l'autre ; de ce fait, ces études ne sont pas comparables entre elles. Deuxièmement, ces études mettent dans le même groupe des greffons dont certains ne violent que légèrement



un seul critère de sélection tandis que d'autres violent l'ensemble des critères. Troisièmement, ces études rétrospectives sont de faible taille, rendant peu probable la mise en évidence d'une différence entre les deux groupes comparés (faible puissance statistique).

D'autres études ont tenté d'évaluer indépendamment l'impact de chaque caractéristique du greffon sur la survie des receveurs, en ajustant sur les autres facteurs pronostiques connus. Cette approche fait appel à des modèles statistiques multivariés et nécessite de larges cohortes de patients. Une étude menée en France a ainsi retrouvé une association entre les échanges gazeux du donneur mesurés avant le prélèvement et la survie des receveurs (Thabut et coll., 2005). D'autres études de ce type sont nécessaires pour évaluer de façon systématique l'impact de chacune des caractéristiques du donneur sur la survie des receveurs.

La quantification objective de l'impact des différents paramètres du donneur sur la fonction du greffon et la survie des receveurs est un élément très important pour une utilisation raisonnée des greffons pulmonaires. Le développement d'un score tel que celui développé en transplantation hépatique pourrait permettre une meilleure quantification de la qualité d'un greffon au moment du prélèvement (Feng et coll., 2006 ; Northup et coll., 2007). Les critères de sélection des greffons utilisés actuellement sont résumés dans le tableau 14.I.

**Tableau 14.I : Critères définissant le donneur idéal en transplantation pulmonaire<sup>1</sup> (Weill, 2002)**

---

Âge < 55 ans
Tabagisme < 20 paquets-années
Absence de maladie respiratoire chronique
Radiographie pulmonaire normale
Absence de sécrétions purulentes
Absence de notion d'inhalation dans les voies aériennes
PaO <sub>2</sub> > 300 mmHg en FIO <sub>2</sub> : 1 avec PEP = 5 cm H <sub>2</sub> O <sup>2</sup>

---

<sup>1</sup> Aucun de ces critères ne constitue aujourd'hui une contre-indication absolue au prélèvement ; <sup>2</sup> Mesure des échanges gazeux dans des conditions de ventilations standardisées : oxygène pur et application d'une pression expiratoire positive égale à 5 cm d'eau

## Donneurs vivants

La greffe à partir de donneurs vivants représente une activité marginale en transplantation pulmonaire (3 transplantations aux États-Unis et aucune en France en 2006). Cette procédure nécessite le prélèvement de deux lobes

pulmonaires à partir de deux donneurs adultes puis leur transplantation chez un receveur de plus petite taille. Les trois interventions sont réalisées simultanément dans trois salles d'opération, nécessitant une importante logistique. La plus grosse cohorte de transplantations pulmonaires à partir de donneurs vivants, rapportée dans la littérature, comprend 128 transplantations réalisées chez 123 patients entre 1993 et 2002 à Los Angeles (Bowdish et coll., 2003, 2004 et 2005 ; Barr et coll., 2005). La survie de ces patients souffrant pour la plupart de mucoviscidose était de 45 % à 5 ans, soit des chiffres comparables à ceux observés à partir de donneurs en état de mort encéphalique. Si cette équipe fait état de complications chez un peu moins de 25 % des donneurs, d'autres équipes rapportent des taux de complications plus élevés (Battafarano et coll., 2000). Quoiqu'il en soit, les problèmes éthiques posés par cette intervention (morbidité importante pour le donneur) et l'absence de supériorité de la transplantation pulmonaire à partir de donneur vivant en termes de survie du receveur ou de fréquence des rejets aigus et chroniques, contrairement à ce qui est rapporté dans d'autres organes, expliquent l'abandon progressif de cette intervention.

## Donneur à cœur arrêté

Afin d'augmenter le nombre d'organes disponibles, plusieurs pays dont la Belgique, la Hollande, le Royaume-Uni, le Japon et l'Espagne ont autorisé le prélèvement de donneurs à cœur arrêté (Egan et coll., 1991). En France, le décret du 2 août 2005 stipule que « le prélèvement des organes figurant sur une liste fixée par arrêté du Ministre chargé de la santé, pris sur proposition de l'Agence de la biomédecine, peut être pratiqué sur une personne décédée présentant un arrêt cardiaque et respiratoire persistant ». Seuls le rein et le foie sont concernés pour le moment. Les donneurs éventuels ont été classés en 5 catégories (classification dite de Maastricht) qui sont décrites précédemment (cf. chapitre sur la transplantation rénale). En France, seules les catégories I, II et IV ont été retenues. Les modalités de prélèvement de ces donneurs sont définies dans le moindre détail, qu'il s'agisse du recueil du consentement, des délais à respecter en matière de tentative de réanimation cardiaque, des modalités de préservation des organes et des limites imposées à leur utilisation.

Si l'échec de la réanimation est confirmée et si aucune alternative thérapeutique n'est possible, il est procédé à un arrêt de la réanimation pendant 5 minutes (délai considéré suffisant pour confirmer la mort sur les critères cliniques suivants : absence totale de conscience et d'activité motrice spontanée et tracé ECG plat irréversible). Il est alors possible d'établir le certificat de décès et de reprendre les manœuvres de réanimation pour transférer le donneur potentiel vers le centre spécialisé. C'est le constat de mort

cardiaque. Une préservation de l'organe est alors instituée. En transplantation pulmonaire, celle-ci consiste à administrer un liquide de préservation glacé dans chaque hémithorax par l'intermédiaire d'un drain pleural (Steen et coll., 2001). Après prélèvement, la transplantation est réalisée soit immédiatement, soit après une phase de reconditionnement pulmonaire (Steen et coll., 2003).

La faisabilité de cette technique en transplantation pulmonaire a été initialement démontrée dans différents modèles animaux. Du fait de son faible métabolisme basal, le poumon tolère sans difficultés une heure d'ischémie chaude (Egan et coll., 1991 ; Greco et coll., 1998) et peut être conservé au moins 12 heures dans un liquide froid de préservation (Steen et coll., 1994 ; Wierup et coll., 1999 ; Egan, 2004 ; Van Raemdonck et coll., 2004). Cette méthode a été transposée chez l'homme au début des années 2000 (Steen et coll., 2001). Les premiers cas rapportés étant plutôt satisfaisants, plusieurs équipes ont lancé un programme de transplantation à partir de donneurs à cœur arrêté. En Espagne, les résultats de transplantations pulmonaires réalisées à partir de donneurs à cœur arrêté ont été récemment rapportés. Sur 17 patients transplantés de 2002 à 2007, la survie à 1 et 3 ans ne différait pas significativement de celle observée après transplantation à partir de donneurs en état de mort encéphalique, et ce en dépit d'une incidence élevée de dysfonction primaire du greffon (de Antonio et coll., 2007). De même, l'incidence de bronchiolite observée était comparable à celle classiquement rapportée à partir de donneurs en état de mort encéphalique. D'autres équipes dans d'autres pays ont rapporté des résultats comparables (Snell et coll., 2008). En transplantation rénale, les transplantations réalisées à partir de donneurs à cœur arrêté donnent des résultats similaires à celles réalisées à partir de donneurs en état de mort encéphalique (Weber et coll., 2002). Si ces résultats préliminaires encourageants demandent naturellement à être confirmés, il s'agit très certainement d'une technique d'avenir, qui devrait être autorisée en France.

## **Reconditionnement pulmonaire**

Le reconditionnement pulmonaire consiste à prélever des greffons, à les perfuser et à les réchauffer dans un circuit de circulation extracorporelle. Cette approche permet d'améliorer les caractéristiques fonctionnelles de certains poumons considérés non prélevables et à les rendre aptes à la transplantation. Après d'importants travaux expérimentaux (Neyrinck et coll., 2004 ; Egan et coll., 2006a ; Erasmus et coll., 2006 ; Wierup et coll., 2006), cette technique a été utilisée chez l'homme récemment (Steen et coll., 2007). Plusieurs centres de transplantations pulmonaires français doivent débiter très prochainement un programme de reconditionnement pulmonaire. Cette

méthode qui doit être validée pourrait contribuer à augmenter le nombre de greffons disponibles, tout en simplifiant l'organisation de la transplantation.

## **Autres approches permettant de réduire la pénurie de greffons en transplantation pulmonaire**

L'augmentation du nombre de greffons est actuellement le principal axe de recherche de la plupart des équipes pour pallier le déséquilibre entre donneurs et receveurs en transplantation pulmonaire. Une autre approche pour l'instant négligée consiste à améliorer l'utilisation qui est faite des greffons disponibles, en privilégiant les transplantations monopulmonaires d'une part et en favorisant les patients les plus à même de tirer bénéfice de la transplantation en termes de survie d'autre part.

### **Choix de la technique chirurgicale**

En fonction de l'indication de la transplantation, plusieurs options chirurgicales sont généralement possibles. Si la transplantation cardio-pulmonaire est devenue aujourd'hui marginale, dans la majorité des indications une transplantation mono- ou bipulmonaire peut être réalisée. Le choix entre ces deux techniques est dicté par des considérations techniques (existence de foyers de suppuration chronique, âge du candidat, présence d'une hypertension artérielle pulmonaire), mais aussi par l'expérience ou l'habitude des équipes. Le choix de la technique chirurgicale ayant naturellement un impact important sur le nombre de transplantations pouvant être réalisées à pool de donneurs constant, il est licite de s'interroger sur les indications indiscutables de la transplantation bipulmonaire. Dans les situations où la transplantation bipulmonaire n'a pas démontré de supériorité par rapport à la transplantation monopulmonaire en termes de survie ou de qualité de vie des patients, cette dernière technique devrait être favorisée. Étonnamment, aucune réflexion n'a été engagée dans la communauté des transplantateurs pulmonaires sur ce sujet.

À l'heure actuelle, plus des deux-tiers des transplantations réalisées en France sont des transplantations bipulmonaires. Dans le monde, la proportion de transplantations bipulmonaires réalisées est en constante augmentation (Trulock et coll., 2007). Si la réalisation d'une transplantation bipulmonaire est indiscutable chez les patients présentant une mucoviscidose, elle est beaucoup plus débattue chez les patients souffrant de BPCO ou de fibrose pulmonaire idiopathique (Lawrence, 2008).

Dans la BPCO, une étude menée à partir du registre de la Société internationale de transplantation cardiaque et pulmonaire a démontré que

les patients âgés de moins de 60 ans avaient une survie à 5 ans supérieure en moyenne de 5 % après transplantation bipulmonaire comparée à la transplantation monopulmonaire (Thabut et coll., 2008a). En revanche, ce bénéfice n'était pas retrouvé chez les patients âgés de plus de 60 ans qui représentent 25 % des patients. Dans la fibrose pulmonaire idiopathique, alors que la proportion de transplantations bipulmonaires ne cesse d'augmenter pour atteindre environ 50 % des patients, le même débat existe. Des données préliminaires suggèrent que la survie à 5 ans serait similaire quel que soit le type de transplantation réalisée (données soumises pour publication). Dans l'hypertension artérielle pulmonaire, il n'y a pas pour l'instant de données solides permettant de choisir entre ces deux techniques.

L'ensemble de ces données suggère que dans certains cas, la réalisation d'une transplantation bipulmonaire n'est pas justifiée. Étant donné l'impact du choix de la procédure chirurgicale sur le nombre de transplantations pulmonaires réalisables pour un nombre de greffons donné, il serait licite d'inciter les équipes de transplantation à utiliser la technique chirurgicale permettant d'offrir un greffon au plus grand nombre de receveurs.

### **Sélection des receveurs**

L'objectif principal de la transplantation pulmonaire est d'améliorer la survie des patients atteints d'insuffisance respiratoire chronique. Les recommandations internationales précisent que la transplantation pulmonaire ne devrait être réalisée que lorsque la survie attendue après transplantation pulmonaire est supérieure à la survie attendue sans transplantation pulmonaire (Maurer et coll., 1998). Si le bénéfice de la transplantation pulmonaire est admis chez les patients souffrant de fibrose pulmonaire (Thabut et coll., 2003), il est en revanche beaucoup plus discuté chez les patients atteints de BPCO (Hosenpud et coll., 1998 ; Stavem et coll., 2006 ; Lawrence, 2008) et chez ceux souffrant de mucoviscidose, tant chez l'adulte (Liou et coll., 2001 et 2005) que chez l'enfant (Liou et coll., 2007). En l'absence d'essai randomisé dont la réalisation paraît illusoire dans cette pathologie, l'évaluation du bénéfice de la transplantation fait appel à des analyses statistiques complexes dont les résultats doivent être considérés avec précaution. En dépit des limites de ces méthodes, il apparaît néanmoins très clairement que certains sous-groupes de patients vivent moins longtemps après transplantation pulmonaire que sans transplantation pulmonaire (Thabut et coll., 2008b). Étant donné le coût de cette technique, les espoirs qu'elle suscite mais aussi la pénurie actuelle de greffons, une réflexion approfondie sur la sélection des patients les plus à même de tirer profit d'une transplantation pulmonaire est impérative. Cette réflexion a été en partie menée aux États-Unis. Elle a débouché sur la création d'un score, le « *Lung Allocation Score* », qui donne la priorité sur liste aux patients ayant le meilleur bénéfice escompté de la transplantation en termes de survie (Egan et coll., 2006b). Le développement d'un tel

outil en France permettrait probablement de diminuer le déséquilibre entre l'offre et la demande de greffons en évitant d'inscrire sur liste des patients qui n'ont pas de bénéfice à attendre de la transplantation pulmonaire.

**En conclusion**, il existe une pénurie de greffons en transplantation pulmonaire comme dans toutes les transplantations d'organes solides. La gestion de cette pénurie consiste à réévaluer le pool existant de donneurs, en améliorant le recensement des donneurs en état de mort encéphalique et en affinant les critères de sélection des greffons. Le développement prévisible des prélèvements à partir de donneurs à cœur arrêté devrait permettre un accroissement du pool de donneurs. Une utilisation plus raisonnée de la transplantation bipulmonaire ainsi qu'une redirection des greffons disponibles vers les patients les plus susceptibles de tirer bénéfice de la transplantation en termes de survie devraient participer à une réduction de la pénurie de greffons actuellement observée.

## BIBLIOGRAPHIE

AGENCE DE LA BIOMÉDECINE. Rapport d'activité de l'Agence de la Biomédecine 2006. Bilan des activités de prélèvement et de greffe en France. Agence de la Biomédecine, Septembre 2007

BARR ML, SCHENKEL FA, BOWDISH ME, STARNES VA. Living donor lobar lung transplantation: current status and future directions. *Transplant Proc* 2005, **37** : 3983-3986

BATTAFARANO RJ, ANDERSON RC, MEYERS BF, GUTHRIE TJ, SCHULLER D, et coll. Perioperative complications after living donor lobectomy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000, **120** : 909-915

BHORADE SM, VIGNESWARAN W, MCCABE MA, GARRITY ER. Liberalization of donor criteria may expand the donor pool without adverse consequence in lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2000, **19** : 1199-1204

BOWDISH ME, BARR ML, STARNES VA. Living lobar transplantation. *Chest Surg Clin N Am* 2003, **13** : 505-524

BOWDISH ME, BARR ML, SCHENKEL FA, WOO MS, BREMNER RM, et coll. A decade of living lobar lung transplantation: perioperative complications after 253 donor lobectomies. *Am J Transplant* 2004, **4** : 1283-1288

BOWDISH ME, PESSOTTO R, BARBERS RG, SCHENKEL FA, STARNES VA, BARR ML. Long-term pulmonary function after living-donor lobar lung transplantation in adults. *Ann Thorac Surg* 2005, **79** : 418-425

DE ANTONIO DG, MARCOS R, LAPORTA R, MORA G, GARCÍA-GALLO C, et coll. Results of clinical lung transplant from uncontrolled non-heart-beating donors. *J Heart Lung Transplant* 2007, **26** : 529-534

EGAN TM. Non-heart-beating donors in thoracic transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2004, **23** : 3-10

EGAN TM, LAMBERT CJ, JR, REDDICK R, ULICNY KS, JR, KEAGY BA, WILCOX BR. A strategy to increase the donor pool: use of cadaver lungs for transplantation. *Ann Thorac Surg* 1991, **52** : 1113-1120 ; discussion 1120-1121

EGAN TM, HAITHCOCK JA, NICOTRA WA, KOUKOULIS G, INOKAWA H, et coll. Ex vivo evaluation of human lungs for transplant suitability. *Ann Thorac Surg* 2006a, **81** : 1205-1213

EGAN TM, MURRAY S, BUSTAMI RT, SHEARON TH, MCCULLOUGH KP, et coll. Development of the new lung allocation system in the United States. *Am J Transplant* 2006b, **6** : 1212-1227

ERASMUS ME, FERNHOUT MH, ELSTRODT JM, RAKHORST G. Normothermic ex vivo lung perfusion of non-heart-beating donor lungs in pigs: from pretransplant function analysis towards a 6-h machine preservation. Normothermic ex vivo lung perfusion of non-heart-beating. *Transplant International* 2006, **19** : 589-593

FENG S, GOODRICH NP, BRAGG-GRESHAM JL, DYKSTRA DM, PUNCH JD, et coll. Characteristics associated with liver graft failure: the concept of a donor risk index. *Am J Transplant* 2006, **6** : 783-790

GRECO R, CORDOVILLA G, SANZ E, BENITO J, CRIADO A, et coll. Warm ischemic tolerance after ventilated non-heart-beating lung donation in piglets. *Eur J Cardiothorac Surg* 1998, **14** : 319-325

HOSENPUD JD, BENNETT LE, KECK BM, EDWARDS EB, NOVICK RJ. Effect of diagnosis on survival benefit of lung transplantation for end-stage lung disease. *Lancet* 1998, **351** : 24-27

LAWRENCE EC. Lung transplantation for COPD: one lung, two lungs, or none? *Lancet* 2008, **371** : 702-703

LIU TG, ADLER FR, CAHILL BC, FITZSIMMONS SC, HUANG D, et coll. Survival effect of lung transplantation among patients with cystic fibrosis. *JAMA* 2001, **286** : 2683-2689

LIU TG, ADLER FR, HUANG D. Use of lung transplantation survival models to refine patient selection in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2005, **171** : 1053-1059

LIU TG, ADLER FR, COX DR, CAHILL BC. Lung transplantation and survival in children with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 2007, **357** : 2143-2152

MAURER JR, FROST AE, ESTENNE M, HIGENBOTTAM T, GLANVILLE AR. International guidelines for the selection of lung transplant candidates. The International Society for Heart and Lung Transplantation, the American Thoracic Society, the American Society of Transplant Physicians, the European Respiratory Society. *Transplantation* 1998, **66** : 951-956

NEYRINCK A, REGA F, JANNIS N, VAN GELDER, E VANDEZANDE, et coll. Ex vivo reperfusion of human lungs declined for transplantation: A novel approach to alleviate donor organ shortage? *J Heart Lung Transplant* 2004, **23** : S173

NORTHUP PG, PRUETT TL, KASHMER DM, ARGO CK, BERG CL, SCHMITT TM. Donor factors predicting recipient survival after liver retransplantation: the retransplant donor risk index. *Am J Transplant* 2007, **7** : 1984-1988

ORENS JB, BOEHLER A, DE PERROT M, ESTENNE M, GLANVILLE AR, et coll. A review of lung transplant donor acceptability criteria. *J Heart Lung Transplant* 2003, **22** : 1183-1200

PIERRE AF, SEKINE Y, HUTCHEON MA, WADDELL TK, KESHAVJEE SH. Marginal donor lungs: a reassessment. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002, **123** : 421-427 ; discussion, 427-428

SNELL GI, LEVVEY BJ, OTO T, MCEGAN R, PILCHER D, et coll. Early lung transplantation success utilizing controlled donation after cardiac death donors. *Am J Transplant* 2008, **8** : 1282-1289

STAVEM K, BJORTUFT O, BORGAN O, GEIRAN O, BOE J. Lung transplantation in patients with chronic obstructive pulmonary disease in a national cohort is without obvious survival benefit. *J Heart Lung Transplant* 2006, **25** : 75-84

STEEN S, KIMBLAD PA, SJOBERG T, LINDBERG L, INGEMANSSON R, MASSA G. Safe lung preservation for twenty-four hours with Perfadex. *Ann Thorac Surg* 1994, **57** : 450-457

STEEN S, SJOBERG T, PIERRE L, LIAO Q, ERIKSSON L, ALGOTSSON L. Transplantation of lungs from a non-heart-beating donor. *Lancet* 2001, **357** : 825-829

STEEN S, LIAO Q, WIERUP PN, BOLYS R, PIERRE L, SJOBERG T. Transplantation of lungs from non-heart-beating donors after functional assessment ex vivo. *Ann Thorac Surg* 2003, **76** : 244-252 ; discussion 252

STEEN S, INGEMANSSON R, ERIKSSON L, PIERRE L, ALGOTSSON L, et coll. First human transplantation of a nonacceptable donor lung after reconditioning ex vivo. *Ann Thorac Surg* 2007, **83** : 2191-2194

SUNDARESAN S, SEMENKOVICH J, OCHOA L, RICHARDSON G, TRULOCK EP, et coll. Successful outcome of lung transplantation is not compromised by the use of marginal donor lungs. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995, **109** : 1075-1079 ; discussion 1079-1080

THABUT G, MAL H, CASTIER Y, GROUSSARD O, BRUGIÈRE O, et coll. Survival benefit of lung transplantation for patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003, **126** : 469-475

THABUT G, MAL H, CERRINA J, DARTEVELLE P, DROMER C, et coll. Influence of donor characteristics on outcome after lung transplantation: a multicenter study. *J Heart Lung Transplant* 2005, **24** : 1347-1353

THABUT G, CHRISTIE JD, RAVAUD P, CASTIER Y, BRUGIÈRE O, et coll. Survival after bilateral versus single lung transplantation for patients with chronic obstructive pulmonary disease: a retrospective analysis of registry data. *Lancet* 2008a, **371** : 744-751

THABUT G, RAVAUD P, CHRISTIE JD, CASTIER Y, FOURNIER M, et coll. Determinants of the survival benefit of lung transplantation in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2008b, **177** : 1156-1163



TRULOCK EP, CHRISTIE JD, EDWARDS LB, BOUCEK MM, AURORA P, et coll. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-fourth official adult lung and heart-lung transplantation report-2007. *J Heart Lung Transplant* 2007, **26** : 782-795

VAN RAEMDONCK DE, REGA FR, NEYRINCK AP, JANNIS N, VERLEDEN GM, LERUT TE. Non-heart-beating donors. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2004, **16** : 309-321

WEBER M, DINDO D, DEMARTINES N, AMBUHL PM, CLAVIEN PA. Kidney transplantation from donors without a heartbeat. *N Engl J Med* 2002, **347** : 248-255

WEILL D. Donor criteria in lung transplantation: an issue revisited. *Chest* 2002, **121** : 2029-2031

WIERUP P, BOLYS R, STEEN S. Gas exchange function one month after transplantation of lungs topically cooled for 2 hours in the non-heart-beating cadaver after failed resuscitation. *J Heart Lung Transplant* 1999, **18** : 133-138

WIERUP P, HARALDSSON Å, NILSSON F, PIERRE L, SCHERSTÉN H, et coll. Ex vivo evaluation of nonacceptable donor lungs. *Ann Thorac Surg* 2006, **81** : 460-466

V

Origine et maîtrise  
des complications chez  
le receveur d'organe



# 15

## Complications chirurgicales, infectieuses et métaboliques après transplantation d'organes

La transplantation d'organes reste une intervention source de complications nombreuses. Bien que les progrès aient été considérables, l'immunosuppression utilisée pour prévenir le phénomène du rejet augmente le risque et la sévérité des complications liées à l'intervention chirurgicale, augmente le risque d'infections, favorise l'émergence d'infections opportunistes et de complications spécifiques aux différents immunosuppresseurs utilisés.

Les complications peuvent se différencier en complications précoces et tardives.

### Complications précoces

Les complications précoces sont principalement liées à l'acte de transplantation (prélèvement du greffon) et sont représentées majoritairement par les complications chirurgicales, et les complications infectieuses.

### Non-fonction du greffon ou dysfonction du greffon

Le prélèvement expose le greffon au risque de lésions de préservation. Les lésions peuvent être majorées par la durée de la période d'ischémie froide (durée entre le moment du prélèvement du greffon et sa revascularisation chez le receveur) et par la survenue d'une période d'ischémie chaude (arrêt cardiaque ou collapsus chez le donneur sans protection du greffon par la perfusion d'un liquide de préservation). Les lésions secondaires à l'ischémie froide sont limitées par la perfusion d'un liquide de préservation lors du prélèvement et la conservation du greffon en hypothermie. Cependant, la survenue d'une non-fonction ou d'une dysfonction du greffon est possible dans toutes les transplantations.

En greffe rénale, la non-fonction du greffon se manifeste par une absence de reprise de la diurèse souvent conséquence d'une tubulopathie. Habituellement, cette complication est réversible et le plus souvent la diurèse et la fonction rénale reprennent au bout de 2 à 3 semaines. Cependant, cette complication a un impact immédiat nécessitant la poursuite de l'hémodialyse jusqu'à normalisation de la fonction rénale, et peut avoir un impact plus tardif sur la fonction rénale à long terme. Les causes de non-fonction peuvent être la mauvaise qualité du greffon, l'âge du donneur, la durée d'ischémie froide et la survenue d'une période d'ischémie chaude, des difficultés techniques chirurgicales per-opératoires.

En greffe hépatique, dans la majeure partie des cas il s'agit plus d'une dysfonction que d'une non-fonction et le greffon hépatique repart après quelques jours. Cependant en cas de longue dysfonction du greffon, le risque infectieux chez le transplanté est très augmenté et donc la morbidité post-opératoire plus élevée. La non-fonction du greffon peut avoir des conséquences dramatiques. Elle est caractérisée par une élévation forte des transaminases, une chute du taux de prothrombine, une élévation des lactates, et elle peut être accompagnée en per-opératoire d'un syndrome de relargage de cytokines, provoquant un état de choc systémique. La non-fonction du greffon se manifeste donc comme une insuffisance hépatique aiguë dans un contexte post-opératoire. Cette complication peut entraîner le décès du patient par insuffisance hépatique ou dans un contexte de défaillance multiviscérale. La non-fonction du greffon peut être transitoire et la fonction hépatique peut s'améliorer rapidement. La difficulté est de décider si le patient doit être retransplanté. En effet, la survie après retransplantation pour non-fonction du greffon est seulement de 50 % au lieu de 90 % après une première transplantation (rapport annuel 2007 de l'Agence de la biomédecine<sup>22</sup>).

Le « *small for size* » syndrome est observé en cas de greffon trop petit pour le receveur. Cette complication est observée après transplantation de lobe gauche ou de foie gauche chez un adulte (transplantation à don familial ou foie partagé). Le foie souffre d'un afflux trop important de sang portal et la masse hépatique est insuffisante, le foie est habituellement congestif et cette complication peut être cause de non-fonction du greffon hépatique.

La non-fonction du greffon est la hantise en greffe cardiaque et en greffe pulmonaire et explique la nécessité d'une ischémie froide très courte pour ces deux organes.

## Autres complications chirurgicales

Après transplantation rénale, les complications vasculaires sont possibles. La sténose de l'artère rénale est une complication rare mais sévère. La thrombose de la veine cave ou de la veine rénale peut favoriser une insuffisance rénale ou une protéinurie. Les autres complications chirurgicales sont les sténoses de l'anastomose urétéro-urétérale ou les sténoses de l'anastomose urétéro-vésicale. Ces sténoses peuvent entraîner une anurie par obstacle. On peut aussi observer des nécroses de l'uretère qui se manifestent par une fuite urinaire. Les complications hémorragiques, telles que l'hématome rétropéritonéal, l'hémorragie et l'hématome péri-rénal font partie des complications opératoires de la transplantation rénale. Enfin, on peut observer des lymphocèles qui peuvent comprimer le greffon ou les voies excrétrices et qui nécessitent parfois une cure chirurgicale par marsupialisation.

Après transplantation hépatique, les complications les plus fréquentes sont les complications vasculaires d'origine artérielle : la thrombose de l'artère hépatique est la complication principale, plus fréquente après technique de foie partagé (*split*) ou de don intra-familial ou de greffon pédiatrique (Clavien et coll., 2007). Elle doit être prévenue par la qualité de la suture ; certaines équipes utilisent des techniques de microchirurgie pour l'éviter. L'échographie doppler réalisée dans les premiers jours permet de détecter les ralentissements du flux artériel et d'entraîner une intervention préventive en cas de suspicion de sténose ou de thrombose. En cas de thrombose artérielle hépatique, si le diagnostic est précoce une réintervention chirurgicale de thrombectomie est possible, sinon la retransplantation hépatique est habituellement la règle à court terme car la thrombose de l'artère hépatique peut entraîner une nécrose hépatique ou une nécrose des voies biliaires.

Les autres complications vasculaires artérielles sont la rupture de l'artère hépatique, plus fréquente après infection sévère, parfois secondaire à un pseudo-anévrisme de l'artère hépatique. Les thromboses de la veine porte ou de la veine cave inférieure sont beaucoup plus rares.

Concernant les complications biliaires en transplantation hépatique (Keegan et coll., 2007 ; Saliba et coll., 2007), les complications fréquentes sont les sténoses anastomotiques biliaires, la fuite biliaire avec fistule biliaire externe, le cholépéritoine, la cholangite ischémique du greffon secondaire à une ischémie artérielle.

Les complications hémorragiques sont encore fréquentes après transplantation, elles peuvent nécessiter une réintervention chirurgicale en cas d'hémopéritoine ou un drainage percutané ou chirurgical en cas d'hématome intra-abdominal.

Les collections intra-abdominales liquidiennes sont fréquentes et traitées par drainage, le risque est leur surinfection.

## **Complications infectieuses**

Les complications infectieuses représentent les principales complications après transplantation (Fishman, 2007). Elles surviennent essentiellement dans les trois premiers mois post-greffe. Les facteurs favorisant la survenue de complications infectieuses sont la condition du patient au moment de la transplantation, la durée de l'opération, les difficultés opératoires, le nombre d'unités sanguines transfusées, l'absence de reprise de fonction du greffon, l'intensité et le type d'immunosuppression (Halloran, 2004), le statut bactériovirologique du donneur et du receveur. Les fortes doses de corticoïdes et l'utilisation d'anticorps polyclonaux ont été particulièrement associées au risque infectieux bactérien ou viral.

### ***Principales infections***

Les infections bactériennes sont extrêmement fréquentes dans les premiers jours post-opératoires, que ce soit sous forme de collections infectées, de septicémie, de bactériémie, d'infections urinaires, d'infections pulmonaires. Le site d'infection peut être lié au type de transplantation.

Les infections fongiques sont moins fréquentes depuis quelques années et les modifications de l'immunosuppression (Singh, 2003). Elles sont très souvent associées à la durée de la réanimation et au fonctionnement du greffon. Les principales sont les candidoses, les aspergilloses. Le pronostic des aspergilloses diffuses autrefois catastrophiques reste grave, mais s'est amélioré suite à l'arrivée de nouveaux anti-fongiques.

Les complications virales sont également fréquentes et pour certaines très caractéristiques de la transplantation d'organes, plusieurs virus sont les plus en cause.

L'infection à cytomégalovirus (CMV) (Gane et coll., 1997 ; Rubin et coll., 2000 ; Humar et coll., 2005 ; Kalil et coll., 2005 ; Hodson et coll., 2005) est soit la conséquence d'une primo-infection, soit la conséquence d'une surinfection ou d'une réactivation virale post-transplantation. Les primo-infections sont les plus sévères, elles se rencontrent dans un contexte où le donneur est séropositif et le receveur séronégatif. Pour éviter cette complication, une prophylaxie anti-CMV est recommandée, soit de façon systématique, habituellement avec du ganciclovir ou du valganciclovir, soit une prophylaxie de type préemptive (traitement par ganciclovir ou valganciclovir en cas d'apparition d'une virémie CMV ou d'une PCR (*Polymerase Chain Reaction*) CMV positive avant la survenue de manifestations). La durée de cette prophylaxie est minimum de 3 mois. La primo-infection CMV nécessite absolument un traitement, elle peut être grave, entraînant une dysfonction du greffon, une pneumopathie, voire une infection généralisée. En 2008, elle menace rarement le pronostic vital, elle peut cependant faciliter la survenue de rejet aigu et de rejet chronique. L'amélioration du pronostic est due à

l'amélioration des techniques de dépistage virologiques (PCR notamment) et à l'efficacité des traitements antiviraux.

Les infections à Epstein Barr Virus (EBV) sont surtout sévères en cas de primo-infections (donneur séropositif, receveur séronégatif) et ces primo-infections sont plus fréquentes chez les enfants (Newell et coll., 1996 ; Green et Webber, 2002). Les infections à EBV peuvent faciliter l'émergence de lymphoproliférations post-transplantation, pouvant elles-mêmes évoluer vers un lymphome. La prévention de la primo-infection est donc extrêmement importante et le monitoring de l'EBV par PCR est primordial. Le traitement des lymphoproliférations en post-transplantation peut aller de la simple baisse de l'immunosuppression associée à un traitement anti-viral à une chimiothérapie en cas de lymphome avéré.

Les infections Herpès Simplex 1 et 2 sont rares et exceptionnellement sévères. Les infections Herpès 6 sont encore mal connues mais les techniques de détection de ce virus ont progressé. Ces infections peuvent être associées à des hépatites en post-transplantation et favoriser l'émergence de rejet. Les primo-infections Herpès 8 ou les réactivations Herpès 8 peuvent être associées à l'émergence de sarcome de Kaposi et sont rares.

### **Importance des hépatites**

L'impact des virus de l'hépatite B (VHB) et de l'hépatite C (VHC) est plus important en transplantation hépatique qu'en transplantation rénale ou d'autres organes. En transplantation hépatique, le virus de l'hépatite B se manifeste essentiellement par la récurrence de ce virus chez les patients transplantés pour hépatopathie chronique due au virus de l'hépatite B. En l'absence de prophylaxie contre le VHB, la récurrence virale B était de 80 %. L'immunoprophylaxie par les immunoglobulines anti-HBs à hautes doses au long cours a permis de réduire de façon significative le taux de récurrence virale B à 30 % et a permis une amélioration significative de la survie (Samuel et coll., 1993 ; Shouval et Samuel, 2000). Des progrès majeurs ont été effectués ces dernières années et l'association d'analogues nucléosidiques ou nucléotidiques avec des immunoglobulines anti-HBs au long cours a permis de réduire la récurrence virale B à moins de 10 % des patients greffés (Shouval et Samuel, 2000 ; Terrault et coll., 2005 ; Samuel et coll., 2006 ; Roche et Samuel, 2007). Le risque de récurrence virale B est plus élevé en cas de répllication virale forte au moment de la transplantation. L'hépatite B acquise post-transplantation hépatique est possible lorsque le greffon provient d'un donneur porteur de l'anticorps anti-HBc (donneur ayant eu une hépatite B) (Roque Afonso et coll., 2002). Dans ce contexte, une prophylaxie antivirale B par antiviraux et/ou immunoglobulines anti-HBs peut être nécessaire. Le risque de transmission de l'hépatite B est majoré si le receveur est naïf de l'infection par le VHB (absence d'anticorps anti-VHB). Après transplantation rénale, cardiaque ou pulmonaire, des réactivations du



virus de l'hépatite B chez le receveur sont possibles lorsque celui-ci a eu l'hépatite B dans le passé. La présence de l'anticorps anti-HBc ou de l'AgHBs chez un receveur de rein, de cœur, ou de poumon doit entraîner une surveillance virologique spécifique et dans certains cas un traitement antiviral préventif. L'immunosuppression post-transplantation peut provoquer la réactivation du virus. L'acquisition d'une hépatite B péri-transplantation est heureusement devenue très rare. Cependant dans tous les cas, la vaccination anti-VHB des candidats à la transplantation est un élément majeur de prophylaxie.

Après transplantation hépatique, la récurrence virale C est constante lorsque le patient est transplanté pour une cirrhose due au virus de l'hépatite C avec présence du virus dans le sang ce qui est le cas dans 90 % des cas (Feraÿ et coll., 1999 ; Forman et coll., 2002 ; McCaughan et coll., 2004 ; Samuel et coll., 2006). Les méthodes de prophylaxie de cette récurrence sont actuellement peu efficaces. Le traitement de la récurrence virale C par l'interféron pegylé et la ribavirine peut entraîner la disparition du virus dans 30 % des cas (Berenguer et coll., 2006 ; Carrion et coll., 2007). Cependant, cette récurrence virale va entraîner l'apparition d'une hépatite chronique puis d'une cirrhose sur le greffon dans des délais plus brefs que dans une population non transplantée (20-25 % de cirrhose à 5 ans) et donc pénaliser la survie à long terme des patients transplantés pour hépatite C. La récurrence C est plus sévère chez les patients transplantés pour co-infection VIH-VHC (Duclos Vallée et coll., 2008). Les hépatites C acquises post-transplantation sont devenues extrêmement rares.

En transplantation rénale, les patients déjà infectés par le virus de l'hépatite C peuvent avoir une réactivation de leur infection virale et une progression plus importante de leur hépatite chronique C vers la cirrhose. La mauvaise tolérance et le risque de rejet secondaire au traitement antiviral par interféron après une greffe rénale poussent à effectuer ce traitement antiviral avant la transplantation.

### ***Complications liées au donneur***

Le donneur n'est pas vierge d'infection et peut transmettre de très nombreuses infections. Les virus, bactéries ou parasites peuvent en effet être localisés dans les cellules du greffon ou dans les cellules ganglionnaires ou lymphocytaires qui accompagnent le greffon. Les infections virales les plus couramment transmises sont le cytomégalovirus, l'Epstein Barr virus, l'Herpès virus 8 (HHV8), les autres virus, plus rarement le virus de la rage, le *West Nile Virus* (Iwamoto et coll., 2003 ; Srinivasan et coll., 2005) et les virus des hépatites. Parmi les infections bactériennes, le bacille de la syphilis peut être transmis et parmi les infections parasitaires, l'infection la plus fréquente transmise est la toxoplasmose. La prévention de ces infections doit être faite par des sérologies bactériennes, virales, parasitaires chez le donneur et le receveur afin de réaliser le meilleur appariement et surtout la meilleure

prévention de ce risque d'infection acquise. Ce risque doit être également évalué dans une notion de bénéfice/risque pour le receveur. À long terme après la transplantation, les complications infectieuses sont plus rares.

### **Prévention des infections**

L'un des grands principes pour réduire la morbidité post-transplantation est la prévention des complications infectieuses.

La prévention des complications bactériennes passe par la préparation du candidat receveur à la transplantation, la réduction des complications chirurgicales, la bonne utilisation des antibiotiques, et une modulation adéquate des immunosuppresseurs (Fishman, 2007).

Les complications virales quant à elles doivent être prévenues par l'appariement des donneurs/receveurs, notamment pour le cytomégalovirus et l'EBV, par l'utilisation d'anti-viraux à titre préventif et thérapeutique et également par la modulation de l'immunosuppression. En cas de greffe appariée entre donneurs et receveurs CMV négatifs avec utilisation de produits sanguins labiles CMV négatifs, il n'y a pas d'acquisition de l'infection à CMV. Cependant, les règles actuelles de répartition des organes rendent difficile cet appariement, de même les tentatives d'appariement entre donneurs et receveurs séronégatifs pour EBV font courir le risque d'un allongement délétère des délais d'attente de la transplantation.

## **Complications tardives**

Les complications tardives sont davantage en liaison avec l'immunosuppression.

### **Complications infectieuses**

Plus on s'éloigne de la transplantation et moins le risque infectieux est important. Cela ne veut cependant pas dire qu'il n'existe pas. Il peut y avoir des complications infectieuses secondaires à des complications tardives (thromboses tardives de l'artère hépatique ou angiocholite post-transplantation hépatique). Ces complications peuvent être favorisées par une immunosuppression forte sur le long terme ou par un traitement de rejet aigu tardif. En greffe rénale, les infections à virus BK posent un problème et peuvent entraîner une néphropathie à virus BK et une insuffisance rénale terminale. Elles semblent liées à l'intensité de l'immunosuppression. Les différents traitements antiviraux (cidofovir, leflunomide, quinolones et immunoglobulines polyvalentes) n'ont pas fait leur preuve et la baisse de l'immunosuppression peut favoriser l'émergence d'un rejet chronique (Bohl et Brennan, 2007).

## Complications cardiovasculaires et métaboliques

Concernant les complications cardiovasculaires et métaboliques (John et Thuluvath, 2002 ; Johnston et coll., 2002 ; Heisel et coll., 2004 ; Khalili et coll., 2004 ; Neal et coll., 2005), le risque cardiovasculaire global après transplantation est augmenté par rapport à la population générale. Tout doit être fait pour prévenir cette complication : prévention de la dyslipidémie, du diabète, arrêt du tabac, mesures diététiques, exercices physiques. En effet, ces complications cardiovasculaires apparaissent comme les premières causes de décès sur le long terme après transplantation rénale et hépatique. Elles ont souvent été sous-estimées notamment en transplantation hépatique et il est maintenant très important d'évaluer ce risque cardiovasculaire avant la transplantation puis de le suivre et de le prévenir après la transplantation. Le renforcement autour des centres de transplantation de spécialistes des complications dysmétaboliques et de cardiologues spécialisés dans les problèmes post-transplantation devrait permettre de diminuer la morbidité et la mortalité liées à ces complications.

La fréquence de l'hypertension artérielle varie de 20 à 50 % en transplantation hépatique à 70 % en transplantation rénale. L'hypertension est favorisée par les traitements immunosuppresseurs et notamment l'utilisation de corticoïdes et d'inhibiteurs de la calcineurine. L'hypertension artérielle a un impact en transplantation sur le risque global cardiovasculaire à long terme. Cette complication doit être prévenue et traitée en modifiant les immunosuppresseurs ou en modifiant leur dose et par l'utilisation d'anti-hypertenseurs.

Concernant les complications métaboliques, la plus fréquente est le diabète. Le diabète *de novo* post-transplantation hépatique est fréquent. Il existe également des aggravations de diabètes pré-existants à la transplantation. Il faut différencier les déséquilibres glycémiques précoces des premières semaines post-transplantation et les diabètes préexistants et se développant sur le long terme. Les facteurs de risque sont l'utilisation des corticoïdes, d'inhibiteurs de la calcineurine et particulièrement le tacrolimus par rapport à la ciclosporine, la présence du virus de l'hépatite C, l'obésité et toutes les affections dysmétaboliques. Ces complications peuvent avoir des conséquences sur la survie du greffon notamment pour le greffon rénal par le biais d'atteintes artérielles et sur la survie du patient rentrant dans le cadre plus général de la morbidité d'origine cardiovasculaire et dysmétabolique. La prévention des complications métaboliques repose sur une immunosuppression sans ou avec des doses faibles de corticoïdes, la diminution ou l'arrêt précoce des corticoïdes, la modification de l'immunosuppression. Le traitement du diabète doit toujours être entrepris pour obtenir un équilibre de la glycémie et des résultats adéquats sur le long terme.

La dyslipidémie est un problème fréquent. Les facteurs de risque sont le type de transplantation, la présence d'une obésité, les habitudes diététiques, les

facteurs génétiques, l'utilisation de fortes doses de corticoïdes, l'utilisation également d'inhibiteurs de mTOR (sirolimus, évérolimus). La prévention et le traitement reposent sur des modifications diététiques essentiellement et dans certains cas l'utilisation de statines est indispensable.

L'obésité est une complication qui devient fréquente. Dans les suites de la transplantation hépatique, on note une prise de poids avec une augmentation de l'IMC (indice de masse corporelle). Les patients ayant un IMC supérieur à 30 représentent 14 % des patients transplantés.

### Récidive de la maladie initiale

En transplantation hépatique, beaucoup de maladies peuvent récidiver, l'impact sur le devenir du greffon et du patient est variable. La récidive virale B est maintenant bien prévenue par la combinaison des immunoglobulines anti-HBs et des antiviraux (voir plus haut). La récidive virale C a un impact majeur sur la survie des patients et des greffons (voir plus haut). Les maladies auto-immunes comme la cirrhose biliaire primitive (CBP), l'hépatite auto-immune et la cholangite sclérosante primitive peuvent récidiver. La récidive de la CBP reste essentiellement histologique et a peu d'impact sur la survie du greffon. La récidive de l'hépatite auto-immune conduit souvent à maintenir une immunosuppression assez forte et est habituellement contrôlée par la corticothérapie. La récidive de cholangite sclérosante peut dans certains cas entraîner des angiocholites. La récidive de l'alcoolisme touche 20-25 % des patients transplantés pour cirrhose alcoolique, la récidive massive de l'alcoolisme n'est cependant observée que dans 10 % des cas. Une prise en charge pré- et post-transplantation des conduites addictives s'avère indispensable.

La récurrence de la néphropathie initiale après transplantation rénale est une cause majeure de dysfonction du greffon et d'échec de greffe. Les glomérulonéphrites sont à l'origine de près de 80 % de ces récdives mais ces chiffres doivent être interprétés avec précaution dans la mesure où des investigations extensives (immunofluorescence, microscopie électronique) sont souvent nécessaires pour confirmer une récidive et ainsi préciser la prévalence réelle de telles complications. Parmi ces glomérulonéphrites, les étiologies les plus fréquemment retrouvées sont dans l'ordre décroissant la hyalinose segmentaire et focale (HSF, jusqu'à 30 % des cas), la néphropathie extra-membraneuse et la néphropathie à dépôts d'IgA et les néphropathies membrano-prolifératives, alors que les néphropathies secondaires aux anticorps anti-membrane basale glomérulaire et au lupus érythémateux disséminé sont moins fréquemment impliquées (< 10 %). Hors du champ des glomérulopathies, les récdives de syndrome hémolytique et urémique (SHU) liées à des déficits héréditaires en facteurs impliqués dans le contrôle de l'activité du complément représentent une cause fréquente de perte du greffon. Jusqu'à présent, aucune stratégie

immunosuppressive n'a permis de démontrer son efficacité réelle dans la prévention des récurrences, quelle qu'en soit la cause et ce dernier point doit faire l'objet d'investigations cliniques spécifiques.

**En conclusion**, la transplantation d'organes reste source de nombreuses complications immédiates et tardives par rapport à une intervention chirurgicale classique pour de nombreuses raisons :

- l'état général des receveurs souvent dégradé au moment de la transplantation, particulièrement en transplantation hépatique ;
- la lourdeur de l'intervention chirurgicale notamment en transplantation hépatique ;
- les conséquences propres à l'ischémie/reperfusion du greffon ; la qualité du greffon qui peut exposer au risque de dysfonction du greffon ;
- l'utilisation d'immunosuppresseurs pour prévenir le rejet de greffe majorant le risque infectieux et exposant aux complications propres aux immunosuppresseurs ;
- le rejet de greffe qui altère le fonctionnement du greffon, et expose à la majoration du traitement immunosuppresseur.

Cependant, ces dernières années ont connu une diminution significative de la morbidité et de la mortalité post-transplantation grâce aux progrès effectués à tous niveaux. Une plus grande attention doit être portée sur les complications à long terme en raison de l'allongement des durées de survie post-transplantation afin d'améliorer encore cette survie mais également afin de diminuer les complications propres à la transplantation et à son environnement.

## BIBLIOGRAPHIE

BERENQUER M, PALAU A, FERNANDEZ A, BENLLOCH S, AGUILERA V, et coll. Efficacy, predictors of response, and potential risks associated with antiviral therapy in liver transplant recipients with recurrent hepatitis C. *Liver Transpl* 2006, **12** : 1044-1048

BOHL DL, BRENNAN DC. BK Virus nephropathy and kidney transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007, **2** : S36-S46

CARRION JA, NAVASA M, GARCIA-RETORTILLO M, GARCÍA-PAGAN JC, CRESPO G, et coll. Efficacy of antiviral therapy on hepatitis C recurrence after liver transplantation: a randomized controlled study. *Gastroenterology* 2007, **132** : 1746-1756

CLAVIEN PA, PETROWSKY H, DEOLIVEIRA ML. Strategies for safer liver surgery and partial liver transplantation. *N Engl J Med* 2007, **356** : 1545-1559

DUCLOS VALLÉE JC, FERAY C, SEBAGH M, TEICHER E, ROQUE-AFONSO AM, et coll. Survival and recurrence of hepatitis C after liver transplantation in patients coinfecting with human immunodeficiency virus and hepatitis C virus. *Hepatology* 2008, **47** : 407-417

FERAY C, CACCAMO L, ALEXANDER GJM, DUCOT B, GUGENHEIM J, et coll. European collaborative study on factors influencing outcome after liver transplantation for hepatitis C. *Gastroenterology* 1999, **117** : 619-625

FISHMAN JA. Infection in solid organ transplant recipients. *N Engl J Med* 2007, **357** : 2601-2614

FORMAN LM, LEWIS JD, BERLIN JA, FELDMAN HI, LUCEY MR. The association between hepatitis C infection and survival after orthotopic liver transplantation. *Gastroenterology* 2002, **122** : 889-896

GANE E, SALIBA F, VALDECASAS GJ, O'GRADY J, PESCOVITZ MD, et coll. Randomised trial of efficacy and safety of oral ganciclovir in the prevention of cytomegalovirus disease in liver transplant recipients. *Lancet* 1997, **350** : 1729-1733 (erratum *Lancet* 1998, **351** : 454)

GREEN M, WEBBER SA. EBV viral load monitoring : unanswered questions. *Am J Transplant* 2002, **2** : 894-895

HALLORAN PF. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med* 2004, **351** : 2715-2729

HEISEL O, HEISEL R, BALSHAW R, KEOWN P. New onset diabetes mellitus in patients receiving calcineurin inhibitors : a systematic review and meta-analysis. *Am J Transpl* 2004, **4** : 583-595

HODSON EM, JONES CA, WEBSTER AC, STRIPPOLI GF, BARCLAY PG, et coll. Antiviral medications to prevent cytomegalovirus disease and early death in recipients of solid organ transplant : a systematic review of randomised controlled trials. *Lancet* 2005, **365** : 2105-2115

HUMAR A, MAZZULLI T, MOUSSA G, RAZONABLE RR, PAYA CV, et coll. Clinical utility of cytomegalovirus (CMV) serology testing in high-risk CMV D+/R- transplant recipients. *Am J Transplant* 2005, **5** : 1065-1070

IWAMOTO M, JERNIGAN DB, GUASCH A, TREPKA MJ, BLACKMORE CG, et coll. Transmission of West Nile Virus from an organ donor to four transplant recipients. *N Engl J Med* 2003, **352** : 2196-2203

JOHN PR, THULUVATH PJ. Outcome of patients with new onset diabetes mellitus after liver transplantation compared with those without diabetes mellitus. *Liver Transplant* 2002, **8** : 708-713

JOHNSTON SD, MORRIS JK, CRAMB R, GUNSON BK, NEUBERGER J. Cardiovascular morbidity and mortality after orthotopic liver transplantation. *Transplantation* 2002, **73** : 901-906

KALIL AC, LEVITSKY J, LYDEN E, STONER J, FREIFELD AG. Meta-analysis : the efficacy of strategies to prevent organ disease by cytomegalovirus in solid organ transplant recipients. *Ann Int Med* 2005, **143** : 870-880

KEEGAN MT, PLEVAK DJ. The perioperative care and complications of liver transplantation. In : Textbook of Hepatology. RODES J, BENHAMOU JP, BLEI A, REICHEN J, RIZZETTO M (eds). 3rd Edition, Blackwell Publishing, 2007 : 1996-2002

KHALILI M, LIM JW, BASS N, ASCHER NL, ROBERTS JP, TERRAULT NA. New onset diabetes mellitus after liver transplantation : the critical role of hepatitis C virus infection. *Liver Transplant* 2004, **10** : 349-355

MCCAUGHAN GW, ZEKRY A. Mechanisms of HCV reinfection and allograft damage after liver transplantation. *J Hepatol* 2004, **40** : 368-374

NEAL DA, BROWN MJ, WILKINSON IB, ALEXANDER GJ. Mechanisms of hypertension after liver transplantation. *Transplantation* 2005, **79** : 935-940

NEWELL KA, ALONSO EM, WHITINGTON PF, BRUCE DS, MILLIS JM, et coll. Posttransplant lymphoproliferative disease in pediatric liver transplantation : interplay between Epstein-Barr virus infection and immunosuppression. *Transplantation* 1996, **62** : 370-375

ROCHE B, SAMUEL D. Risk factors for hepatitis C recurrence after liver transplantation. *J Viral Hepat* 2007, **14** : 89-96

ROQUE AFONSO AM, FERAY C, SAMUEL D, SIMONEAU D, ROCHE B, et coll. Antibodies to hepatitis B surface antigen prevent viral reactivation in recipients of liver grafts from anti-HBC positive donors. *Gut* 2002, **50** : 95-99

RUBIN RH, KEMMERLY SA, CONTI D, DORAN M, MURRAY BM, et coll. Prevention of primary cytomegalovirus disease in organ transplant recipients with oral ganciclovir or oral Acyclovir prophylaxis. *Transpl Inf Dis* 2000, **2** : 112-117

SALIBA F, SAMUEL D. Post-transplantation management and complications. In : Textbook of Hepatology. RODES J, BENHAMOU JP, BLEI A, REICHEN J, RIZZETTO M (eds). 3rd Edition, Blackwell Publishing, 2007 : 2019-2026

SAMUEL D, MULLER R, ALEXANDER G, FASSATI L, DUCOT B, et coll. Liver transplantation in European patients with the hepatitis B surface antigen. *N Engl J Med* 1993, **329** : 1842-1847

SAMUEL D, FORNS X, BERENGUER M, TRAUTWEIN C, BURROUGHS A, et coll. Report of the monothematic EASL conference on liver transplantation for viral hepatitis (Paris, France, Janvier 12-14, 2006). *Journal of Hepatology* 2006, **45** : 127-143

SHOUVAL D, SAMUEL D. Hepatitis B immune globulin to prevent HBV graft reinfection following liver transplantation: a concise review. *Hepatology* 2000, **32** : 1189-1195

SINGH N. Fungal infections in the recipient of solid organ transplantation. *Infect Dis Clin North Am* 2003, **37** : 113-134

SRINIVASAN A, BURTON EC, KUENERT MJ, RUPPRECHT C, SUTKER WL, et coll. Transmission of rabies virus from an organ donor to four transplant recipients. *N Engl J Med* 2005, **352** : 1103-1111

TERRAULT N, ROCHE B, SAMUEL D. Management of the hepatitis B virus in the liver transplantation setting: a European and an American perspective. *Liver Transpl* 2005, **11** : 716-732

# 16

## Néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine

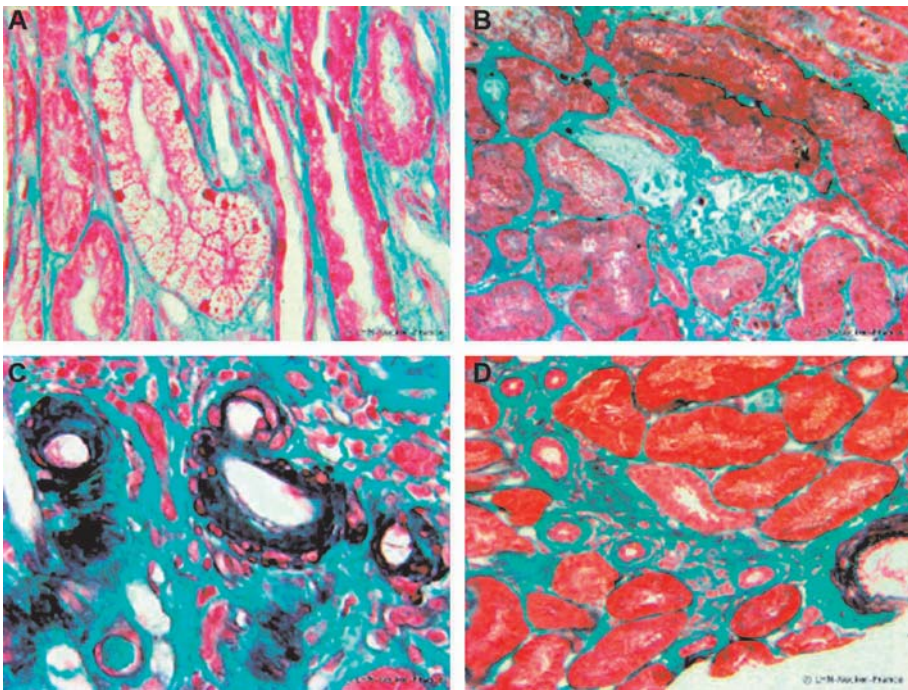
L'introduction des inhibiteurs de la calcineurine (CNI), la ciclosporine (CsA) et le tacrolimus (TRL), dans les protocoles immunosuppresseurs a révolutionné le pronostic des greffes d'organes solides en réduisant significativement l'incidence des rejets aigus. Cependant, le prix à payer pour ce succès est le développement d'une néphropathie vasculaire et tubulo-interstitielle chronique détruisant progressivement le parenchyme rénal et pouvant aboutir à l'insuffisance rénale chronique (Nankivell et coll., 2005). L'étude des mécanismes aboutissant à la survenue de cette néphrotoxicité a déjà donné lieu à une littérature abondante. Si elle a permis de mettre en évidence l'implication de nombreuses voies de signalisation impliquées en particulier dans la régulation du tonus vasculaire et dans la fibrogenèse, l'origine cellulaire et moléculaire de cette toxicité reste encore obscure.

### Expression clinique de la néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine

Les CNI sont responsables de deux formes de néphrotoxicité : une néphrotoxicité aiguë ou fonctionnelle et une néphrotoxicité chronique ou structurale. La néphrotoxicité fonctionnelle, dose-dépendante et réversible, est associée à des altérations de l'hémodynamique intrarénale et une réduction du débit de filtration glomérulaire qui débute très précocement après l'initiation du traitement. Cette vasoconstriction est la conséquence d'une augmentation du tonus sympathique, d'une activation du système rénine-angiotensine, d'une diminution de la production de molécules vasodilatatrices (prostaglandines, monoxyde d'azote) et d'une augmentation de la production d'endothéline I (ET-I). Cette ischémie parenchymateuse a comme conséquence une insuffisance rénale fonctionnelle régressant rapidement à la réduction des posologies de CNI. Il est cependant admis que ces phénomènes ischémiques aigus peuvent induire progressivement des lésions structurelles irréversibles. La néphrotoxicité chronique est caractérisée par une artériolopathie constituée de dépôts hyalins dits « en collier de perle » (figure 16.1C),



une atrophie tubulaire, une fibrose interstitielle en bandes (figure 16.1D) et une glomérulosclérose. La vasoconstriction et les lésions des cellules endothéliales peuvent conduire à une nécrose des cellules musculaires lisses et à une hyalinisation des parois vasculaires, réduisant le diamètre de la lumière du vaisseau à l'origine d'une ischémie chronique, contribuant ainsi à la fibrose en bande (Liptak et Ivanyi, 2006). Cependant, les lésions tubulo-interstitielles peuvent se développer indépendamment de l'artériolopathie. La néphrotoxicité des CNI peut également se manifester sous la forme de microvacuoles isovolumétriques présentes essentiellement dans les cellules tubulaires proximales (figure 16.1A) et de calcifications interstitielles (figure 16.1B).



**Figure 16.1 : Lésions histologiques observées au cours de la néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine**

(A) Vacuoles isovolumétriques dans les tubes proximaux. (B) Calcifications interstitielles. (C) Dépôts hyalins intermyocytaires et sous-intimaux. (D) Fibrose interstitielle en bande. Coloration au Trichrome vert lumière x 250 (A et C) ou x 400 (B et D) (Laure Hélène Noël, Laboratoire d'anatomie pathologique, Hôpital Necker).

## Histoire naturelle de la néphrotoxicité

Les biopsies de routine ou de dépistage ont apporté des éléments de connaissance importants de même que l'étude de la fonction rénale chez les patients transplantés avec un organe différent du rein et recevant comme traitement immunosuppresseur des CNI, ou encore l'étude de la fonction rénale chez des patients non transplantés recevant un CNI dans le cadre du traitement d'une maladie auto-immune.

En transplantation rénale, la néphrotoxicité s'intègre dans le cadre plus général de la néphropathie chronique du greffon, caractérisée par l'apparition d'une fibrose aboutissant à la dégradation de fonction puis à la perte du greffon. Responsable de 30 à 40 % des pertes de greffons après 1 an de greffe, la néphropathie chronique du greffon correspond à la seconde cause de perte de greffons après le décès du patient.

Fait capital, les lésions histologiques précèdent la dégradation fonctionnelle. Dans l'étude princeps de Brian Nankivell et coll. (2005), chez des patients ayant bénéficié d'une double transplantation rein-pancréas, une moyenne de 8 biopsies de routine réalisées sur une période de suivi d'environ 10 ans, a mis en évidence qu'au terme du suivi, alors même que la qualité des reins greffés était excellente, 100 % des biopsies contenaient des lésions de néphrotoxicité attribuées aux CNI. Cette étude n'est certes pas exempte de critique car d'une part, il est bien difficile de comparer l'évolution de transplantations rein-pancréas et de transplantations rénales et d'autre part, les lésions de néphrotoxicité n'ont aucune spécificité et en particulier la fibrose interstitielle et l'atrophie tubulaire peuvent être la conséquence de nombreuses autres lésions comme le rejet chronique. Enfin, il manque des études comparant l'évolution à long terme des lésions histologiques chez des patients ayant reçu des CNI et chez des patients n'en ayant jamais reçu.

Par ailleurs, la néphrotoxicité des CNI est également bien mise en évidence grâce à l'étude de l'insuffisance rénale chez les patients ayant été transplantés avec un autre organe que le rein (Ojo et coll., 2003). Dans ces cas, un pourcentage non négligeable de patients transplantés (par exemple 20 % à 5 ans en transplantation hépatique) présente une insuffisance rénale chronique avérée. À dix ans, environ 10 % des patients transplantés sont en phase terminale de cette insuffisance rénale et nécessitent le recours à la dialyse. La majorité des lésions observées, mais pas toutes, sont liées à la néphrotoxicité des CNI (Pillebout et coll., 2005).

## Données physiopathologiques établies

Différents types cellulaires semblent être simultanément les cibles de la néphrotoxicité des CNI (figure 16.2). L'épithélium tubulaire est impliqué dans la fibrogenèse induite par les CNI, notamment par la production de molécules profibrosantes comme le *Transforming Growth Factor*  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) et l'endothéline I (ET-I) qui activent les fibroblastes interstitiels et induisent la synthèse de matrice extracellulaire, ou par transition épithélio-mésenchymateuse (TEM). L'interstitium rénal est également impliqué dans la survenue de la fibrose lors d'un traitement par CsA, en particulier par l'infiltration macrophagique interstitielle (la CsA induit l'expression de cytokines chémo-attractantes) à l'origine de la sécrétion de TGF- $\beta$ . Enfin, l'atteinte des cellules endothéliales est attestée par la survenue des dépôts endothéliaux typiques de la néphrotoxicité des CNI et par leur rôle dans la synthèse de substances vasoconstrictrices.

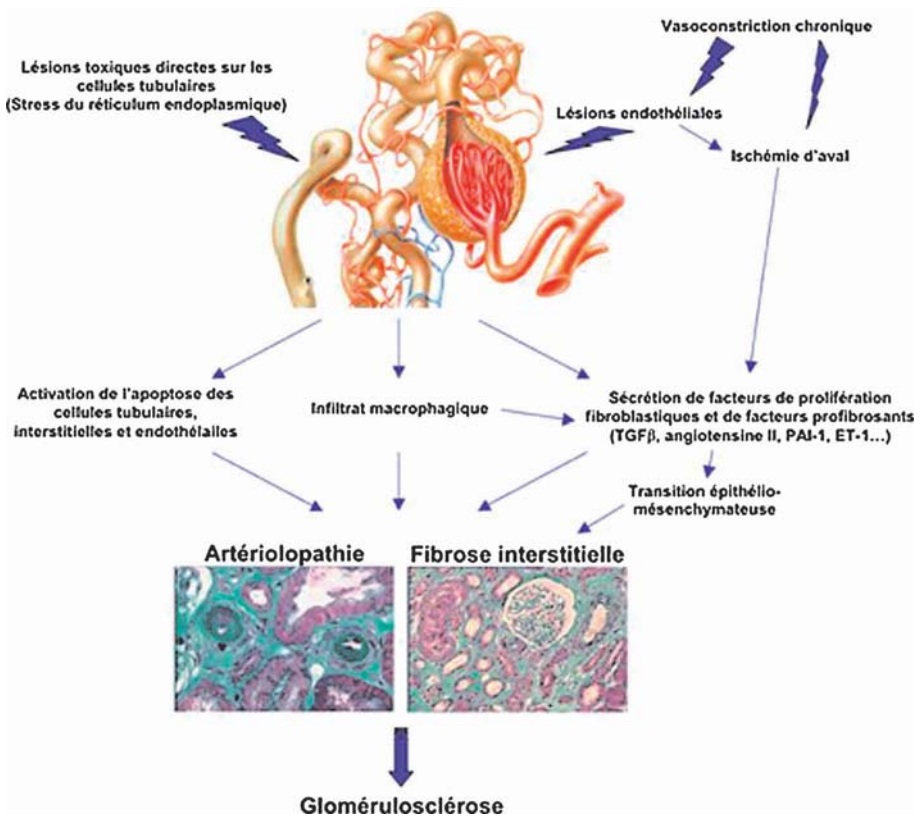


Figure 16.2 : Représentation schématique de la physiopathologie de la néphrotoxicité de la ciclosporine

La néphrotoxicité liée aux CNI est le fruit de multiples mécanismes cellulaires et moléculaires (toxicité directe et lésionnelle ou réponse cellulaire plus complexe impliquant la sécrétion de peptides et l'activation de voies de signalisation sur un mode paracrine et autocrine). Si cette néphrotoxicité est une complication commune aux CNI, sa physiopathologie a surtout été étudiée après traitement par CsA.

### **Endothéline I**

L'ET-I provoque une vasoconstriction de la plupart des vaisseaux rénaux et peut promouvoir une fibrose interstitielle par la synthèse de protéines de la matrice extracellulaire. Il a été montré que la CsA induisait la production d'ET-I dans des cultures de cellules endothéliales et musculaires lisses et augmentait les concentrations plasmatiques d'ET-I chez les transplantés rénaux (Cauduro et coll., 2005). Chez l'animal, la CsA est responsable d'une vasoconstriction, d'une diminution du flux plasmatique et du débit de filtration glomérulaire significativement réversible après l'administration d'un antagoniste du récepteur à l'ET-I ou d'un anticorps anti-ET-I (Perico et coll., 1990 ; Lanese et Conger, 1993).

### **Tonus sympathique**

La CsA pourrait affecter le tonus sympathique intrarénal, conduisant ainsi à une vasoconstriction des petits vaisseaux rénaux. Il a été montré, chez des patients greffés cardiaques, que la CsA augmentait les concentrations sanguines de noradrénaline (Scherrer et coll., 1990). La dénervation rénale ou l'administration d'un antagoniste des récepteurs  $\alpha$ -adrénergiques peuvent prévenir la diminution du débit sanguin rénal et du débit de filtration glomérulaire qui suivent l'administration de CsA à des rats (Murray et coll., 1985).

### **Thromboxanes et prostaglandines**

Une altération de la cascade prostaglandines/thromboxanes pourrait jouer un rôle dans la néphrotoxicité de la CsA en produisant une vasoconstriction des microvaisseaux rénaux (Conger et coll., 1994 ; Darlametsos et Varonos, 2001). Chez le rat, la CsA est responsable d'une augmentation de l'excrétion urinaire de thromboxane B2 et d'une diminution parallèle de la fonction rénale. L'administration d'un inhibiteur de la thromboxane synthétase ou d'un antagoniste du récepteur au thromboxane améliore significativement la fonction rénale sans modifier les concentrations sanguines de CsA et normalise l'excrétion urinaire de thromboxane B2. La diminution de la synthèse de prostaglandines vasodilatatrices (PGE2 notamment) et l'augmentation du ratio PGE2/thromboxane B2 excrété sont impliquées dans la

réduction du débit de filtration glomérulaire chez le rat traité par CsA (Darlametsos et Varonos, 2001).

### **Système rénine-angiotensine**

Les effets toxiques de la CsA sont observés plus rapidement chez le rat sous un régime pauvre en sodium, ce régime stimulant l'activité rénine et la production d'angiotensine II (ATII). L'activité rénine plasmatique est alors très augmentée par la CsA, parallèlement à la décroissance de la fonction rénale et au développement d'une hypertension, modifications prévenues par l'administration d'un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IEC) (Pichler et coll., 1995). *In vitro*, la CsA augmente la sécrétion de TGF- $\beta$  et l'administration concomitante d'un IEC prévient cet effet. Un antagoniste des récepteurs de l'ATII améliore les lésions fibreuses en diminuant la production de TGF- $\beta$  et l'expression de protéines matricielles chez le rat. Chez le transplanté rénal présentant une néphrotoxicité chronique de la CsA, le niveau de TGF- $\beta$  est augmenté et le traitement par un antagoniste des récepteurs de l'ATII fait diminuer significativement les concentrations sanguines de TGF- $\beta$  (Campistol et coll., 1999).

### **TGF- $\beta$**

Le TGF- $\beta$  joue un rôle fondamental dans la fibrogenèse rénale et dans l'évolution des néphropathies du transplant par ses actions sur la prolifération fibroblastique, la synthèse de matrice extracellulaire et la TEM. De nombreux travaux ont souligné le rôle du TGF- $\beta$  comme médiateur de la néphrotoxicité des CNI. En particulier, les CNI augmentent la production de TGF- $\beta$  *in vitro* et *in vivo* chez les patients transplantés, de façon ATII dépendante et indépendante (Campistol et Sacks, 2000 ; Ozdemir et coll., 2005). Le rôle pathogène du TGF- $\beta$  dans la néphrotoxicité de la CsA est soutenu par l'utilisation d'anticorps anti-TGF- $\beta$  réduisant la fibrogenèse rénale dans un modèle de néphrotoxicité de CsA chez le rat (Khanna et coll., 2004).

### **Stress oxydant**

La formation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) contribue au développement des lésions de fibrose interstitielle et d'atrophie tubulaire au cours des néphropathies chroniques du transplant par l'intermédiaire de la TEM, de l'apoptose et de l'inflammation. La CsA peut induire la production d'ERO *in vitro* et *in vivo* par l'activation du cytochrome P450 3A4 (CYP3A4), de la NADPH oxydase ainsi que de l'inhibition de la glutathion synthétase (Buetler et coll., 2000). De nombreux travaux expérimentaux rendent compte d'un effet néphroprotecteur des anti-oxydants au cours d'un

traitement par CsA mais la contribution précise de la production d'ERO et du rôle des antioxydants dans la survenue de la néphrotoxicité chronique liée à la CsA en clinique reste à déterminer.

### Apoptose

Il est bien établi que la CsA peut induire l'apoptose des cellules tubulaires et interstitielles constituant ainsi un mécanisme possible de néphrotoxicité. La détection de l'apoptose induite par la CsA corrèle avec l'atrophie tubulaire et la fibrose interstitielle. Les mécanismes pouvant aboutir à l'apparition de l'apoptose lors d'un traitement par CsA sont variés : dysrégulation de l'homéostasie intracellulaire du calcium, stress oxydant, stress du réticulum endoplasmique, et font intervenir au moins deux voies : la voie mitochondriale et celle médiée par le réticulum endoplasmique (Justo et coll., 2003).

### Rôle de la P-glycoprotéine

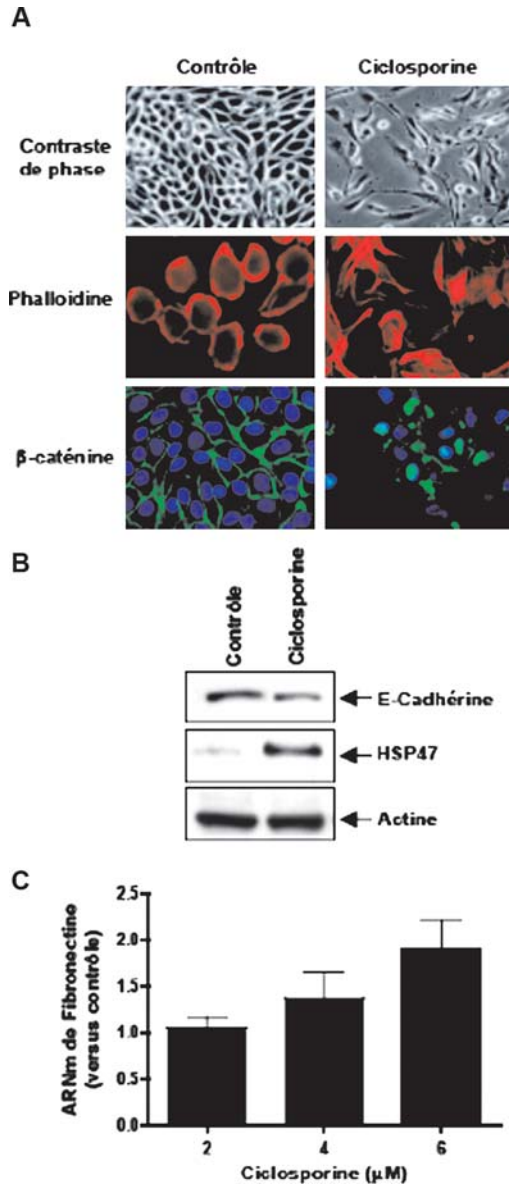
La P-glycoprotéine (Pgp) est une pompe membranaire ATP-dépendante exprimée par les cellules épithéliales du tube digestif et du rein et par les cellules endothéliales des barrières hémato-encéphaliques, hémato-testiculaires, hémato-placentaires... Cette protéine qui joue le rôle de pompe d'efflux a de très nombreux substrats, dont la CsA et le TRL. Dans un modèle de culture primaire de cellules épithéliales tubulaires rénales, nous avons montré que la cytotoxicité de la CsA était dépendante de l'activité de la Pgp (Anglicheau et coll., 2006). Cette hypothèse est corroborée par une autre étude suggérant qu'un polymorphisme génétique du gène *ABCB1*, codant la Pgp, évalué sur l'ADN du donneur de greffon rénal était associé au risque de néphrotoxicité *in vivo*, chez l'homme (Hauser et coll., 2005).

## Mécanismes émergents

Si de nombreux facteurs impliqués dans la néphrotoxicité des CNI sont maintenant identifiés, les mécanismes cellulaires et moléculaires intimes qui conduisent à leur mise en jeu demeurent mal connus. Le développement de techniques nouvelles comme par exemple celle des puces à ADN, permettant de déterminer les modifications du transcriptome en réponse à un toxique, a conduit à développer de nouvelles hypothèses physiopathologiques.

### Transition épithélio-mésenchymateuse

Les myofibroblastes constituent une source majeure de matrice extracellulaire. Bien que leur rôle au cours de la fibrogenèse rénale soit reconnu, une controverse existe quant à leur origine (Liu, 2004). Environ 30 % de myofibroblastes présents dans le rein auraient comme origine les cellules tubulaires et seraient générés par un processus de TEM (Iwano et coll., 2002). La TEM existe chez l'homme au cours de diverses néphropathies mais sa contribution à l'évolution de la fibrose rénale est encore peu étudiée chez l'homme (Liu, 2004), même si de forts arguments expérimentaux l'impliquent dans la progression de la fibrose interstitielle. La TEM se caractérise par l'acquisition par les cellules tubulaires d'un phénotype myofibroblastique au cours d'un processus dynamique comportant : la perte d'adhésion intercellulaire et d'expression membranaire de protéines constituant les jonctions intercellulaires, l'expression *de novo* de marqueurs mésenchymateux, la réorganisation du cytosquelette d'actine permettant la migration cellulaire et la production de composants de la matrice extracellulaire. La TEM est déclenchée par de nombreux stimuli extracellulaires avec comme acteur central le TGF- $\beta$ . Il a été récemment montré *in vitro* que la CsA pouvait induire une TEM sur des cellules tubulaires rénales proximales humaines, et que ce phénomène était lié à la sécrétion de TGF- $\beta$  et à son action autocrine (Slattery et coll., 2005). Il a également été montré *in vitro* (figure 16.3) et *in vivo* dans un modèle de néphrotoxicité de CsA chez le rat qu'une TEM pouvait survenir précocement et qu'elle précédait l'apparition de lésions de fibrose (Pallet et coll., 2008). Enfin, il existe des arguments expérimentaux en faveur de l'induction par les inhibiteurs de la calcineurine de lésions de transition, cette fois-ci non plus épithélio-mésenchymateuse, mais endothélio-mésenchymateuse.



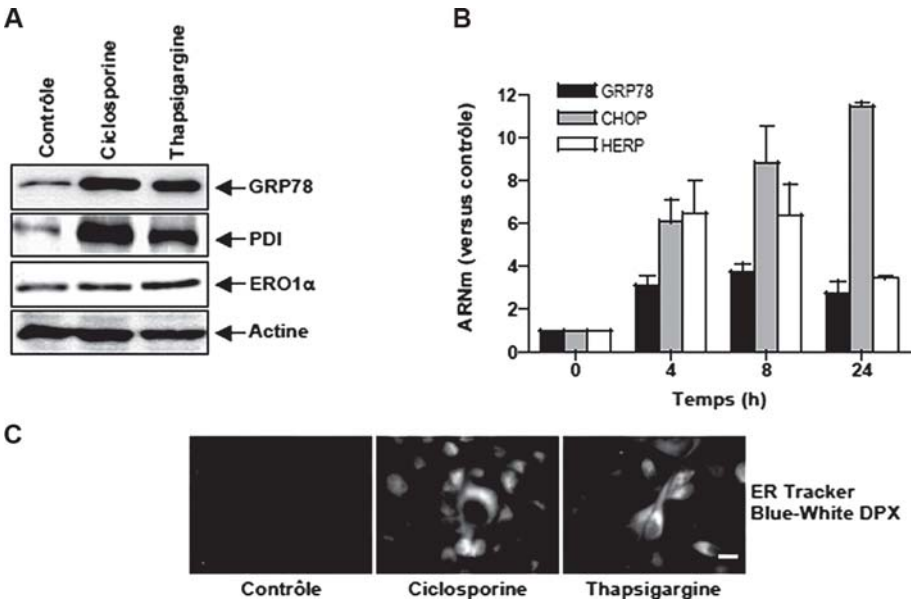
**Figure 16.3 : Transition épithélio-mésenchymateuse induite par la ciclosporine**

Des cellules tubulaires rénales humaines traitées pendant 48 heures par 6  $\mu$ M de ciclosporine s'allongent, se détachent, et prennent une morphologie « myofibroblastique ». En microscopie à fluorescence, la phalloïdine montre le cytosquelette d'actine qui forme des fibres de stress, témoignant de la perte de la polarité basolatérale (A). La redistribution nucléocytoplasmique de la  $\beta$ -caténine (A), la diminution de l'expression de E-cadherine (B, *western-blot*), l'augmentation de l'expression de HSP47 (*Heat Shock Protein 47*) (B) et la synthèse de fibronectine (C, PCR quantitative) caractérisent les altérations phénotypiques de la transition épithélio-mésenchymateuse (modifié d'après Pallet et coll., 2008).



### Stress du réticulum endoplasmique

De nombreuses situations comme des perturbations de l'homéostasie du calcium ou du statut redox, une carence en glucose ou une glycosylation altérée perturbent le fonctionnement du réticulum endoplasmique (RE) et induisent l'accumulation de protéines non ou insuffisamment matures, ce qui constitue pour la cellule une situation dite de stress du RE (SRE). Face à ces conditions stressantes, la cellule s'adapte en produisant une réponse qui se caractérise par une diminution globale de la synthèse protéique, l'augmentation de la capacité de maturation et de sécrétion protéique et enfin l'augmentation de la capacité de dégradation protéique (Xu et coll., 2005). Si ces mesures de régulation sont dépassées, le SRE peut conduire à l'apoptose. Il a été montré dans un modèle de cellules de cancer du col de l'utérus, ainsi que dans un modèle de culture d'hépatocytes que la CsA induisait un SRE. Il a été montré *in vitro* et *in vivo* que la CsA induisait un SRE dans les cellules tubulaires rénales, ce qui constitue un mécanisme original de néphrotoxicité (figure 16.4) (Pallet et coll., 2008). Or, le stress du réticulum endoplasmique est une des explications de la transition épithélio-mésenchymateuse. Expérimentalement, le blocage du stress du réticulum endoplasmique par le salubrinal fait disparaître les phénomènes de transition épithélio-mésenchymateuse sur les cellules tubulaires.



**Figure 16.4 : Stress du réticulum endoplasmique induit par la ciclosporine**

Des cellules tubulaires rénales humaines traitées pendant 48 heures par 6  $\mu$ M de ciclosporine augmentent l'expression de nombreux médiateurs de la réponse au stress du réticulum endoplasmique, GRP78, PDI, ERO1 $\alpha$ , CHOP et HERP (A : western blot ; B : PCR en temps réel). La lumière du réticulum endoplasmique est également augmentée de taille comme en témoigne l'accumulation de la sonde fluorescente ER tracker® (C : immunofluorescence). La thapsigargine est utilisée comme contrôle positif (modifié d'après Pallet et coll., 2008).

## Cibles cellulaires des inhibiteurs de la calcineurine

La compréhension des mécanismes de néphrotoxicité des CNI implique l'étude du rôle de l'inhibition de leurs cibles cellulaires, la cyclophiline A (CyPA), la *FK Binding Protein 12* (FKBP12) et la calcineurine. En effet, la CsA et le TRL se lient à des protéines cytoplasmiques. La CsA se fixe sur la CyPA tandis que le TRL se fixe sur la FKBP12, et c'est ce complexe ainsi formé qui inhibe l'activité phosphatase de la calcineurine.

Il est maintenant bien établi que la CsA et le TRL ont le même potentiel fibrogénique, et *in fine*, partagent le même potentiel néphrotoxique (Roos-van Groningen et coll., 2006). Il est donc logique de supposer que les effets néphrotoxiques des CNI sont liés à l'inhibition de la calcineurine qui comporte deux sous-unités,  $\alpha$  et  $\beta$  exprimées dans le rein. La sous-unité  $\alpha$  de la calcineurine intervient dans le développement rénal normal. La délétion de la sous-unité  $\alpha$  chez la souris induit une augmentation de la synthèse de la matrice extracellulaire et le développement de lésions histologiques analogues à celles induites par la CsA, alors que la perte de la sous-unité  $\beta$  n'induit aucune pathologie (Gooch et coll., 2004). *In vitro*, la délétion de la sous-unité  $\alpha$  dans des fibroblastes induit une augmentation de sécrétion de TGF- $\beta$  et de fibronectine (Gooch et coll., 2007).

Le rôle de l'inhibition des immunophilines dans la survenue de la néphrotoxicité a également été suggéré. La CyPA, ligand endogène de la CsA, constitue la principale isoforme des cyclophilines chez les mammifères. Les cyclophilines sont des isomérases qui induisent des modifications structurales post-traductionnelles des protéines. La CyPA est impliquée dans la différenciation cellulaire, la réplication virale, la transduction du signal et le trafic intracellulaire. La CsA inhibe l'activité isomérase de la CyPA. Les souris surexprimant la CyPA sont résistantes à la néphrotoxicité de la CsA alors que celles exprimant une CyPA mutée développent spontanément des lésions évocatrices de néphrotoxicité de la CsA et sont plus sensibles à l'insuffisance rénale lors d'un traitement par CsA (Hong et coll., 2004). Récemment, il a été montré que l'extinction de l'expression de CyPA par siRNA conduisait à un SRE et à une TEM des cellules épithéliales tubulaires rénales (Pallet et coll., 2008).

Les FKBP partagent certaines fonctions enzymatiques avec les cyclophilines, notamment l'activité isomérase, mais avec un spectre de substrats plus réduit. FKBP12 est l'isoforme majoritaire et se lie à la rapamycine et au TRL. L'inhibition de la FKBP12 ne semble pas capable d'induire une néphrotoxicité. Un analogue du TRL, le L-615,818, inhibiteur de la fonction isomérase de la FKBP12, mais dépourvu d'effet inhibiteur de la CNA, n'est responsable d'aucune néphrotoxicité *in vivo* (Dumont et coll., 1992).

**En conclusion**, la néphrotoxicité des CNI est un phénomène complexe et multifactoriel. Une meilleure compréhension des mécanismes cellulaires et moléculaires aboutissant à la survenue de ces effets toxiques demeure essentielle pour améliorer la prise en charge de cette complication. En particulier, la mise en lumière de nouvelles pistes physiopathologiques pourrait servir à développer des biomarqueurs d'atteinte précoce permettant des modifications thérapeutiques en temps utile.

## BIBLIOGRAPHIE

ANGLICHEAU D, PALLET N, RABANT M, MARQUET P, CASSINAT B, et coll. Role of P-glycoprotein in cyclosporine cytotoxicity in the cyclosporine–sirolimus interaction. *Kidney Int* 2006, **70** : 1019-1025

BUETLER TM, COTTET-MAIRE F, KRAUSKOPF A, RUEGG UT. Does cyclosporin A generate free radicals? *Trends Pharmacol Sci* 2000, **21** : 288-290

CAMPISTOL JM, SACKS SH. Mechanisms of nephrotoxicity. *Transplantation* 2000, **69** : S5-10

CAMPISTOL JM, INIGO P, JIMENEZ W, LARIO S, CLESCA PH, et coll. Losartan decreases plasma levels of TGF-beta1 in transplant patients with chronic allograft nephropathy. *Kidney Int* 1999, **56** : 714-719

CAUDURO RL, COSTA C, LHULIER F, GARCIA RG, CABRAL RD, et coll. Endothelin-1 plasma levels and hypertension in cyclosporine-treated renal transplant patients. *Clin Transplant* 2005, **19** : 470-474

CONGER JD, KIM GE, ROBINETTE JB. Effects of ANG II, ETA, and TxA2 receptor antagonists on cyclosporin A renal vasoconstriction. *Am J Physiol* 1994, **267** : F443-F449

DARLAMETSOS IE, VARONOS DD. Role of prostanoids and endothelins in the prevention of cyclosporine-induced nephrotoxicity. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2001, **64** : 231-239

DUMONT FJ, STARUCH MJ, KOPRAK SL, SIEKIERKA JJ, LIN CS, et coll. The immunosuppressive and toxic effects of FK-506 are mechanistically related: pharmacology of a novel antagonist of FK-506 and rapamycin. *J Exp Med* 1992, **176** : 751-760

GOOCH JL, TORO JJ, GULER RL, BARNES JL. Calcineurin A-alpha but not A-beta is required for normal kidney development and function. *Am J Pathol* 2004, **165** : 1755-1765

GOOCH JL, ROBERTS BR, COBBS SL, TUMLIN JA. Loss of the alpha-isoform of calcineurin is sufficient to induce nephrotoxicity and altered expression of transforming growth factor-beta. *Transplantation* 2007, **83** : 439-447

HAUSER IA, SCHAEFFELER E, GAUER S, SCHEUERMANN EH, WEGNER B, et coll. ABCB1 genotype of the donor but not of the recipient is a major risk factor for

cyclosporine-related nephrotoxicity after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2005, **16** : 1501-1511

HONG F, LEE J, PIAO YJ, JAE YK, KIM YJ, et coll. Transgenic mice overexpressing cyclophilin A are resistant to cyclosporin A-induced nephrotoxicity via peptidyl-prolyl cis-trans isomerase activity. *Biochem Biophys Res Commun* 2004, **316** : 1073-1080

IWANO M, PLIETH D, DANOFF TM, XUE C, OKADA H, NEILSON EG. Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis. *J Clin Invest* 2002, **110** : 341-350

JUSTO P, LORZ C, SANZ A, EGIDO J, ORTIZ A. Intracellular mechanisms of cyclosporin A-induced tubular cell apoptosis. *J Am Soc Nephrol* 2003, **14** : 3072-3080

KHANNA AK, PLUMMER MS, HILTON G, PIEPER GM, LEDBETTER S. Anti-transforming growth factor antibody at low but not high doses limits cyclosporine-mediated nephrotoxicity without altering rat cardiac allograft survival: potential of therapeutic applications. *Circulation* 2004, **110** : 3822-3829

LANESE DM, CONGER JD. Effects of endothelin receptor antagonist on cyclosporine-induced vasoconstriction in isolated rat renal arterioles. *J Clin Invest* 1993, **91** : 2144-2149

LIPTAK P, IVANYI B. Primer: Histopathology of calcineurin-inhibitor toxicity in renal allografts. *Nat Clin Pract Nephrol* 2006, **2** : 398-404

LIU Y. Epithelial to mesenchymal transition in renal fibrogenesis: pathologic significance, molecular mechanism, and therapeutic intervention. *J Am Soc Nephrol* 2004, **15** : 1-12

MURRAY BM, PALLER MS, FERRIS TF. Effect of cyclosporine administration on renal hemodynamics in conscious rats. *Kidney Int* 1985, **28** : 767-774

NANKIVELL BJ, BORROWS RJ, FUNG CL, O'CONNELL PJ, ALLEN RD, CHAPMAN JR. The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med* 2005, **349** : 2326-2333

OJO AO, HELD PJ, PORT FK, WOLFE RA, LEICHTMANN AB, et coll. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. *N Engl J Med* 2003, **349** : 931-940

OZDEMIR BH, OZDEMIR FN, DEMIRHAN B, HABERAL M. TGF-beta1 expression in renal allograft rejection and cyclosporine A toxicity. *Transplantation* 2005, **80** : 1681-1685

PALLET N, BOUVIER N, BENDJALLABAH A, RABANT M, FLINOIS JP, et coll. Cyclosporine-induced endoplasmic reticulum stress triggers tubular phenotypic changes and death. *Am J Transplant* 2008 Sep 9 [Epub ahead of print]

PERICO N, DADAN J, REMUZZI G. Endothelin mediates the renal vasoconstriction induced by cyclosporine in the rat. *J Am Soc Nephrol* 1990, **1** : 76-83

PICHLER RH, FRANCESCHINI N, YOUNG BA, HUGO C, ANDOH TF, et coll. Pathogenesis of cyclosporine nephropathy: roles of angiotensin II and osteopontin. *J Am Soc Nephrol* 1995, **6** : 1186-1196

PILLEBOUT E, NOCHY D, HILL G, CONTI F, ANTOINE C, CALMUS Y, GLOTZ D. Renal histopathological lesions after orthotopic liver transplantation (OLT). *Am J Transplant* 2005, **5** : 1120-1129

ROOS-VAN GRONINGEN MC, SCHOLTEN EM, LELIEVELD PM, ROWSHANI AT, BAELEDE HJ, et coll. Molecular comparison of calcineurin inhibitor-induced fibrogenic responses in protocol renal transplant biopsies. *J Am Soc Nephrol* 2006, **17** : 881-888

SCHERRER U, VISSING SF, MORGAN BJ, ROLLINS JA, TINDALL RS, et coll. Cyclosporine-induced sympathetic activation and hypertension after heart transplantation. *N Engl J Med* 1990, **323** : 693-699

SLATTERY C, CAMPBELL E, MCMORROW T, RYAN MP. Cyclosporine A-induced renal fibrosis: a role for epithelial-mesenchymal transition. *Am J Pathol* 2005, **167** : 395-407

XU C, BAILLY-MAITRE B, REED JC. Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions. *J Clin Invest* 2005, **115** : 2656-2664

## 17

## Cancers chez les patients transplantés

L'augmentation de la survie de la population greffée décrite dans les registres nationaux et internationaux et observée dans les expériences locales représente un espoir pour des patients condamnés à court terme au moment de leur inscription sur liste d'attente. Ce remarquable résultat doit cependant être pondéré par la survenue d'événements adverses. Avec l'amélioration des traitements immunosuppresseurs et la réduction de l'incidence des rejets aigus, les cancers deviennent une cause importante de mortalité chez les patients transplantés et pourraient dans le futur constituer le risque majeur de décès chez ces patients. Un enjeu important en transplantation est de déterminer comment réduire l'incidence des cancers et leur impact chez les greffés.

### Incidence et types de cancers chez les patients transplantés

L'incidence et le risque de cancer sont plus élevés chez les transplantés d'organe solide par comparaison à la population générale (Gutierrez-Dalmau et Campistol, 2007). Les cancers représentent désormais l'une des causes de mortalité la plus significative dans la population de transplantés ; les cancers cutanés et les lymphomes post-transplantation (PTLD pour *PostTransplant Lymphoproliferative Disorder*) sont les plus fréquemment rencontrés chez les patients transplantés (Buell et coll., 2005a).

D'après l'étude de Taylor et coll. (2008), sur les 1 856 survivants au-delà de 10 ans après une greffe cardiaque (cohorte étudiée dans le registre international de la Société de transplantation cardiaque et pulmonaire), 32 % des greffés cardiaques auront développé une néoplasie dans les 10 ans suivant leur greffe (Taylor et coll., 2008). Pour la majorité (61 %) d'entre eux, la localisation est cutanée, alors qu'il s'agit de lymphome ou d'une autre localisation dans respectivement 6 % et 18 % des cas. Il est à noter que dans ce registre volontaire et non exhaustif, la nature du processus tumoral reste inconnue (non rapportée) dans 18 % des cas. Les cancers constituent une des principales causes de mortalité au-delà de la 5<sup>e</sup> année post-greffe cardiaque (Taylor et coll., 2008). Au-delà de la 10<sup>e</sup> année, ils représentent même la

première cause de mortalité avec 22,1 % des causes de décès imputables à une néoplasie (contre 14,7 % à une maladie vasculaire du greffon et 16,8 % à une défaillance cardiaque) (Taylor et coll., 2008).

D'autres auteurs ont rapporté, dans des séries monocentriques, l'incidence des cancers dans leurs populations de greffés. L'expérience australienne est ainsi rapportée par Rothmaier et coll. en 2007. Au sein d'une population de greffés d'organe thoracique de 905 patients, l'incidence des cancers (cancers de la peau exclus) est de 11,3 %. Des lymphomes ont été observés chez 3,6 % des greffés australiens, soit 26 fois le risque de la population générale. De même, l'incidence des cancers pulmonaires est multipliée par 9 (Rothmaier et coll., 2007).

Kasiske et coll. (2004) classent les cancers selon l'augmentation de risque de survenue chez les transplantés rénaux comparativement à la population non transplantée appariée (tableau 17.I). Les cancers du côlon, poumon, prostate, estomac, œsophage, pancréas, ovaire et seins sont deux fois plus fréquents par rapport aux non greffés. Les cancers du testicule et de la vessie (x3), les mélanomes, les leucémies, les cancers de foie et gynécologiques (x5) sont plus fréquents. Les cancers du rein, le sarcome de kaposi, les lymphomes (PTLD, *Post-Transplant Lymphoproliferative Disease*) et les cancers de la peau sont à haut risque de survenue en relation avec la transplantation (taux multiplié par 15 à 20).

Les données françaises issues de la base de données exhaustive Cristal de l'Agence de la biomédecine ont été communiquées lors du congrès 2007 de la Société francophone de transplantation par Pessione et Rebibou (2007). Parmi 47 000 receveurs greffés (tous organes confondus), 3 300 (soit 7 %) ont développé au moins un cancer. À noter que dans cette analyse, les cancers cutanés sont exclus du fait du risque de non exhaustivité. Tous types de cancers confondus, l'incidence cumulée à 10 ans atteint 8,6 % et diffère selon l'organe greffé. Elle est rapportée atteindre 7,9 %, 8,7 %, 11,2 % et 7,1 % respectivement en greffe rénale, hépatique, cardiaque et pulmonaire. Une incidence plus importante en transplantation cardiaque et pulmonaire que pour les greffes abdominales est retrouvée pour les lymphomes, les cancers masculins, les cancers broncho-pulmonaires. Par rapport à la population générale appariée sur l'âge et le sexe, le risque relatif de développer un cancer broncho-pulmonaire est ainsi multiplié par 5,9 en greffe cardiaque et par 12,4 en greffe pulmonaire.

Andres (2005) estime que la grande variabilité dans le report de l'incidence des cancers en transplantation rénale entre 2,3 % et 31 % est liée à l'hétérogénéité des populations, des durées de suivi, des cancers eux-mêmes.

L'impact pronostique des cancers sur la survie des patients greffés a été rapporté par plusieurs études (Farge, 1993 ; Caforio et coll., 2000 ; Opelz et Dohler, 2004) et une récente revue publiée sur les transplantés rénaux (Wong et Chapman, 2008). L'analyse des cancers colorectaux dans le registre

Israel Penn (Buell et coll., 2005b) montre que dans cette population de transplantés rénaux, le diagnostic d'un cancer colorectal localisé est associé à une survie à 5 ans de 74 % *versus* 90 % dans la population générale. En cas de cancer invasif, cette survie n'est même que de 20 % *versus* 65 % dans une population appariée pour l'âge et le sexe (Wong et Chapman, 2008).

**Tableau 17.1 : Comparaison des taux de cancers ajustés sur l'âge des patients transplantés rénaux *versus* la population américaine non greffée (d'après Kasiske et coll., 2004)**

Localisation	Taux de cancer chez l'homme <sup>1</sup>				Taux de cancer chez la femme <sup>1</sup>			
	Pop. NT <sup>2</sup>	Années post-transplantation			Pop. NT <sup>2</sup>	Années post-transplantation		
		1	2	3		1	2	3
<b>Peau</b>								
Peau	24,0	2 017,1	2 333,3	2 160,2	14,3	851,6	1 306,8	1 320,5
Mélanome	19,0	60,4	77,5	131,3	12,1	99,9	58,4	63,5
<b>Gastro-intestinal</b>								
Côlon	66,4	137,2	99,8	107,7	48,5	91,1	160,8	137,0
Œsophage	8,8	17,4	12,4	21,3	2,2	3,6	0,0	6,2
Hépatobiliaire	9,4	33,5	143,1	39,2	5,4	83,2	11,8	24,3
Pancréas	12,3	19,8	34,1	12,4	9,6	25,1	19,7	44,1
Intestin grêle	2,0	3,8	7,8	4,1	1,4	25,1	0,0	0,0
Estomac	11,0	38,9	23,2	4,1	5,1	23,7	4,7	21,4
<b>Génito-urinaire</b>								
Vessie	38,3	148,9	80,2	60,9	10,0	69,0	36,3	36,3
Col utérin	-	-	-	-	9,4	9,4	56,7	53,7
Rein	16,0	671,0	236,3	226,1	8,4	767,7	136,1	122,9
Ovaires	-	-	-	-	16,2	29,5	25,1	42,4
Prostate	162,0	477,4	360,5	265,8	-	-	-	-
Testicules	5,5	21,3	16,3	20,4	-	-	-	-
Utérus	-	-	-	-	0,7	51,7	32,2	21,5
Vulvo-vaginal	-	-	-	-	3,0	14,6	14,2	26,5
<b>Lymphomes</b>								
Hodgkin	3,2	37,9	12,4	98,6	2,5	11,5	0,0	93,5
Non Hodgkinien	22,0	882,0	345,1	150,7	15,7	667,5	337,5	456,7
<b>Autres</b>								
Os	1,1	68,3	15,5	94,0	0,8	23,5	11,8	15,2
Sein	1,5	6,8	16,3	6,0	134,1	343,4	262,5	144,3
SNC	7,9	85,9	119,1	62,6	5,7	153,7	130,9	156,9
Endocrinien	4,3	76,6	48,2	10,2	10,4	100,3	170,0	153,3
Larynx	7,9	15,1	6,2	36,3	1,7	8,9	24,5	21,0
Leucémie	14,5	102,0	41,1	28,1	8,8	157,0	39,3	69,7
Poumon	89,1	149,4	155,5	202,8	53,4	141,8	87,7	194,1
Bouche	15,8	269,4	62,1	71,2	6,3	138,4	59,1	70,2
Kaposi	1,5	55,0	45,0	26,1	0,1	56,0	11,8	6,2

<sup>1</sup> Taux pour 100 000 personnes-années dans la population américaine et pour les transplantés. Tous les taux sont standardisés selon les classes d'âge sur la population américaine recensée en 2000 ; <sup>2</sup> Population américaine non transplantée



## Facteurs favorisant le développement des cancers

Pour la plupart des cancers, la survenue est considérée comme favorisée par le traitement immunosuppresseur indispensable à la réalisation de la greffe. Actuellement, les traitements d'entretien des patients transplantés associent généralement trois immunosuppresseurs : un corticoïde à faible dose (prednisolone 5 mg), un inhibiteur des bases puriques (azathioprine ou mycophénolate mofétil) et un anticalcineurine (ciclosporine ou tacrolimus). Certains immunosuppresseurs (par exemple azathioprine) sont plus que d'autres susceptibles d'induire une mutagenèse cellulaire puis un cancer. Les inhibiteurs de la calcineurine par modification de l'expression cytokinique (TGF- $\beta$  pour *Transforming Growth Factor*-beta), ou de facteurs de croissance (VEGF pour *Vascular Endothelial Growth Factor*) vont favoriser la progression tumorale, l'angiogenèse pronéoplasique ou le développement métastatique. Les corticoïdes peuvent interférer avec la sensibilité des tumeurs au traitement ou à la dérégulation des cycles cellulaires cancéreux.

Un certain nombre de facteurs vont prédisposer les patients transplantés au développement de néoplasies.

Le premier d'entre eux est la pathologie préexistante ayant conduit à la greffe. Par exemple, en transplantation rénale (tableau 17.II), le principal facteur favorisant le cancer rénal est l'ancienneté d'évolution de l'insuffisance rénale terminale. En transplantation hépatique, le carcinome hépatocellulaire associé aux virus des hépatites B et C ayant conduit à la transplantation expose le patient à un plus haut risque de récurrence. En transplantation thoracique, le contexte de tabagisme associé au broncho-emphysème et à la myocardopathie ischémique qui ont conduit à l'indication de greffe est également un facteur de cancérogenèse post-transplantation.

**Tableau 17.II : Antécédents de cancers chez les receveurs avant transplantation rénale et risque de récurrence après greffe (d'après Andres, 2005)**

	Taux de récurrence		
	Bas (0-10 %)	Moyen (11-25 %)	Haut (> 26 %)
Antécédents de cancers	Tumeurs rénales découvertes par hasard Lymphomes Cancer des testicules, col utérin, thyroïde	Carcinome utérin Tumeurs de Wilm Cancers côlon, prostate et seins	Carcinome vessie Sarcomes Cancers cutanés (mélanomes et non-mélanomes) Cancer rénal symptomatique Myélome

En s'appuyant sur l'analyse de plus de 35 000 patients greffés rénaux américains, un certain nombre d'autres facteurs de risque semblent significativement associés en analyse multivariée aux cancers non cutanés (Kasiske et coll., 2004) : le jeune âge (lymphomes pédiatriques) comme l'âge avancé, le sexe masculin, le type caucasien.

Un lien fort a été démontré entre certains facteurs environnementaux et le cancer post-transplantation. Certaines infections virales dont le développement est favorisé par l'immunodépression sont ainsi clairement associées à un type de cancer (Buell et coll., 2005b ; Thauvat et coll., 2005) :

- le virus Epstein Barr (EBV) avec les syndromes lymphoprolifératifs ;
- les virus hépatite B et C avec l'hépatocarcinome ;
- l'herpès virus humain de type 8 (HHV8) avec le sarcome de kaposi ;
- les papillomavirus 16 et 18 avec les carcinomes du col de l'utérus ou anogénitaux.

Pour les patients à risque de récurrence de cancer ou au passé de néoplasie, il a été établi une période d'observation de 2 à 5 ans entre guérison observée d'un cancer et transplantation rénale (tableau 17.III). Cette période repose sur des études observationnelles. Pour Kasiske et coll. (1995), 53 % des récurrences de tumeurs seraient évitées par une attente de 2 ans et 85 % après 5 ans.

**Tableau 17.III : Délai recommandé entre traitement curatif des cancers et transplantation rénale (d'après Andres, 2005)**

< 2 ans	2 ans	De 2 à 5 ans
Tumeurs rénales découvertes par hasard	Tous les cancers sauf ceux nécessitant un délai de moins de 2 ans ou de 2 à 5 ans	Mélanomes
Carcinomes <i>in situ</i>		Cancer colorectal
Petits cancers isolés focaux		Cancer de l'utérus non- <i>in situ</i>
Cancer de vessie de bas grade		Lymphomes
Carcinomes basocellulaires		Cancer de la prostate
		Cancer rénal symptomatique ou important (> 5 cm)

## Cas particulier des carcinomes cutanés

Les cancers cutanés, notamment les carcinomes spinocellulaires, sont les cancers les plus fréquents chez les greffés d'organe solide (Euvrard et coll., 2003), avec une augmentation de l'incidence à distance de la transplantation et à terme plus de la moitié des patients greffés sont concernés. Les cancers cutanés représentent à long terme un facteur de morbidité important puisque le risque de ce type de cancer augmente avec la durée de l'immunosuppression : la plupart des études montrent qu'après 20 ans de transplantation, 50 % des patients des pays occidentaux et 70 à 80 % des

patients australiens développent au moins un cancer cutané (Bouwes Bavinck et coll., 1996 ; Ramsay et coll., 2002). Le délai d'apparition dépend de l'âge au moment de la transplantation, du type de peau, de l'exposition au soleil et de l'immunosuppression. Ce délai est en moyenne de 7-8 ans pour des patients greffés à l'âge de 40 ans (Euvrard et coll., 1995) ; il est plus court pour les patients plus âgés (3 ans pour les carcinomes spinocellulaires après 60 ans contre 13 ans avant 40 ans) (Webb et coll., 1997). Le type de transplantation d'organes est également un facteur dans le risque de développement tumoral. Euvrard et coll. rapportaient en 1995 une incidence supérieure chez les greffés cardiaques comparés aux transplantés rénaux. En 2006, cette observation était affinée, les greffés cardiaques présentant certes des tumeurs plus tôt que les transplantés rénaux mais au total moins nombreuses (Euvrard et coll., 2006).

Les patients peuvent présenter différentes variétés de cancers cutanés incluant le mélanome, la maladie de Kaposi et d'autres tumeurs plus rares, mais 95 % des cancers cutanés développés par les patients transplantés sont des carcinomes. La majorité des patients vont développer des carcinomes multiples comportant non seulement des carcinomes spinocellulaires (taux multiplié par 65 à 250 par rapport à la population non transplantée) (Hartevelt et coll., 1990 ; Jensen et coll., 1999) mais aussi des carcinomes basocellulaires (taux multiplié par 10). L'augmentation des carcinomes avec le temps se fait sur un mode linéaire pour les carcinomes basocellulaires et exponentiel pour les carcinomes spinocellulaires ce qui conduit à une inversion des rapports carcinomes spinocellulaires/basocellulaires observés dans la population non immunodéprimée (4/1 au lieu de 1/4). Fréquemment, les patients ont également d'autres lésions dysplasiques à caractère multiple, essentiellement des kératoses pré-épithéliomateuses et des maladies de Bowen (correspondant à un carcinome *in situ*) qui peuvent se transformer en carcinome spinocellulaire et des kératoacanthomes. La distinction histologique entre carcinome spinocellulaire et kératoacanthome n'est pas toujours possible, et il est maintenant admis que le kératoacanthome chez un greffé doit être considéré comme un carcinome spinocellulaire (Cohen et coll., 1987 ; Liddington et coll., 1989).

Si de nombreuses études détaillent année par année une augmentation globale de l'incidence des cancers cutanés dans les cohortes de greffés rénaux (Hartevelt et coll., 1990 ; Bouwes Bavinck et coll., 1996 ; Webb et coll., 1997 ; Naldi et coll., 2000 ; Harden et coll., 2001), peu de travaux analysent pour un patient donné la séquence de survenue d'un nouveau cancer après un premier cancer cutané. Une étude anglaise faisant le compte des carcinomes baso- et spinocellulaires, des kératoacanthomes et des maladies de Bowen sur une petite série de 15 patients ayant des tumeurs multiples a montré que la 2<sup>e</sup> tumeur apparaissait dans un délai de 15 mois et la 3<sup>e</sup>, 11 mois après la deuxième, une tendance à l'accélération se faisant pour les tumeurs suivantes (Liddington et coll., 1989). Une étude suédoise portant sur 172 patients

transplantés ayant développé des carcinomes spinocellulaires a montré qu'à partir de l'apparition du premier carcinome spinocellulaire, le risque pour un patient de faire un 2<sup>e</sup> carcinome était de 25 % dans les 13 mois et de 50 % dans les 3 ans et demi (Lindelhof et coll., 2000). Ramsay et coll. (2007), en suivant 267 transplantés rénaux britanniques pendant 7 ans, ont observé une incidence annuelle moyenne de 7,82 % de carcinomes cutanés non mélanomes incluant 3,58 % de basocellulaires, 3,45 % pour les spinocellulaires et 2,52 % pour les maladies de Bowen et carcinomes *in situ*.

Une autre façon de considérer les carcinomes cutanés est d'en apprécier le risque de récurrence. Après l'apparition du premier carcinome spinocellulaire, la proportion de patients greffés cardiaques ayant développé au moins un 2<sup>e</sup> carcinome spinocellulaire est de 22 % à 1 an, 33 % à 2 ans, 34 % à 3 ans, 43 % à 4 ans et 56 % à 5 ans (Euvrard et coll., 2006). Si l'on considère la totalité des tumeurs cutanées (incluant non seulement carcinome spinocellulaire, mais aussi basocellulaire, kératoacanthome, maladie de Bowen et kératose pré-maligne), 40 % des patients font de nouvelles tumeurs dans la première année et 67 % dans les deux ans (moyenne = 2,6 par patient en deux ans) (Euvrard et coll., 2006). Par ailleurs, il a été rapporté que le risque de carcinome spinocellulaire dans une population de greffés ayant déjà eu un carcinome basocellulaire était multiplié par 3 par rapport à ceux n'ayant eu aucune lésion (lesquels ont déjà un risque multiplié par 100) (Naldi et coll., 2000).

La majorité des lésions siègent sur les zones découvertes. En plus des lésions tumorales, les patients ont souvent des lésions verrucokératosiques dont la multiplicité est prédictive de carcinome. Une étude récente sur les lésions kératosiques multiples a montré que le risque de carcinome spinocellulaire était multiplié par 12 chez les patients ayant plus de 50 lésions (Bouwes Bavinck et coll., 2007).

Les carcinomes spinocellulaires chez les patients greffés sont plus agressifs que chez les sujets non-immunodéprimés (Euvrard et coll., 1995) et se compliquent de récurrences locales et de métastases dans 12 % et 8 % des cas, respectivement.

Ces lésions cutanées ont souvent des aspects cliniques semblables (Cooper et coll., 2002) justifiant que toute lésion tumorale cutanée soit enlevée avec un contrôle histologique afin d'avoir le diagnostic précis ; les carcinomes spinocellulaires peuvent en effet avoir une évolution mortelle dans certains cas et nécessitent un suivi plus rapproché. Garg et coll. (2008) et Ismail et coll. (2006) mettent en exergue l'importance de la mise en place de structures de dépistage et de suivi dermatologiques spécifiques des patients transplantés pour une meilleure exhaustivité et efficacité. Ces tumeurs cutanées à caractère multiple compromettent souvent la qualité de vie par les interventions à répétitions nécessaires sur des zones visibles (visage, cou, dos des mains et des avant-bras). Certains patients doivent subir l'ablation de plusieurs tumeurs chaque mois et développent jusqu'à 100 tumeurs par an.

## **Carcinomes cutanés et immunosuppression**

Les deux facteurs les plus importants dans le développement des carcinomes cutanés chez les transplantés sont l'exposition solaire et l'immunosuppression. Les carcinomes cutanés semblent associés à une profonde immunosuppression, puisque le nombre de lymphocytes T CD4 est diminué de façon significative chez les patients avec carcinome en comparaison avec ceux sans carcinome (Euvrard et coll., 1995). Par ailleurs, les carcinomes cutanés semblent prédictifs d'un risque plus élevé d'autres cancers (Euvrard et coll., 1992 et 2006 ; Penn, 1996 ; Kanitakis et coll., 1996 ; Arends et coll., 1997 ; Harzallah et coll., 2006).

Le rôle oncogène spécifique de chaque médicament immunosuppresseur est difficile à apprécier car l'immunodépression en elle-même intervient par son intensité et sa durée (Bouwes Bavinck et coll., 1996 ; Hojo et coll., 1999). Le risque de carcinome spinocellulaire est 3 fois plus élevé chez les patients sous trithérapie associant prednisolone, azathioprine et ciclosporine que chez ceux ne recevant que prednisolone et azathioprine (Jensen et coll., 1999). Une étude randomisée comparant deux protocoles immunosuppresseurs à base de ciclosporine a montré que les faibles doses étaient associées à moins de cancers (Dantal et coll., 1998). Les doses cumulées d'immunosuppresseurs sont difficiles à calculer, et une fréquence élevée de rejet dans la première année (associée à un traitement plus fort) pourrait être corrélée à un risque supérieur (Caforio et coll., 2000).

Depuis plus de 30 ans, le rôle des papillomavirus humains (PVH) a été envisagé dans le développement des carcinomes chez les greffés rénaux (Walder et coll., 1971), en raison de l'association fréquente dans les mêmes zones à des verrues virales. Les études les plus récentes ont montré que 80 à 90 % des carcinomes spinocellulaires des greffés contenaient du génome de PVH mais leur rôle précis reste discuté (Harwood et coll., 2000 ; Purdie et coll., 2005).

Il a été documenté que des lésions multiples ou récidivantes peuvent correspondre à une immunodépression profonde ; la réduction du traitement immunosuppresseur peut limiter ces lésions (Euvrard et coll., 1995 ; Otley et coll., 2001 ; Berg et Otley, 2002). Cependant, l'amélioration (régression partielle ou totale des kératoses et ralentissement dans l'apparition de nouvelles lésions) nécessite généralement quelques mois.

Les rétinoïdes administrés par voie buccale peuvent être proposés car ils contribuent également à la régression des tumeurs préexistantes et au ralentissement de l'apparition de nouvelles lésions mais leur effet n'est que suspensif et leur tolérance souvent difficile (sécheresse de la peau et des muqueuses, prurit, hyperlipidémie) (Euvrard et coll., 1997).

Face à cette stratégie immunosuppressive classique et à ses complications potentielles, les équipes de transplantation ont proposé différentes stratégies de minimisation d'immunosuppresseurs. Moins d'exposition médicamenteuse

suggère une réduction du risque de toxicité. Par ailleurs, de nouvelles molécules sont aujourd'hui proposées aux patients (Kreis et coll., 2000 ; Dantal et Souillou, 2005 ; Dunn, 2006). Issues de la famille des antagonistes de la protéine mTOR, l'évérolimus et le siromilus sont dotés d'une activité antitumorale *in vitro* et *in vivo* (Lebbé et coll., 2006). Cet effet s'exercerait de manière directe (anti-proliférant) et indirecte (anti-angiogénique) (Guba et coll., 2002 ; Campistol et coll., 2006). Leur développement clinique est en cours et a déjà débouché sur des indications spécifiques d'utilisation de ces molécules en cancérologie.

## Cas particulier des lymphomes post-transplantation

L'incidence des lymphomes post-transplantation varie selon les auteurs entre 2 et 6 % des patients transplantés selon que l'on considère une cohorte historique ou récente, une population jeune ou âgée, un suivi court ou long. L'analyse de la base de données française Cristal identifie une incidence cumulée de lymphome à 10 ans de 1,3 % pour la tranche la moins exposée de 20 à 40 ans à 2,05 % pour la plus exposée de 0 à 20 ans. Cette relation à l'âge est bien décrite (Swerdlow, 2000 ; Opelz et Döhler, 2004). L'induction immunosuppressive qui accompagne la plupart des transplantations d'organes aujourd'hui en Europe et notamment celle qui fait appel aux anticorps polyclonaux a également été suspectée d'induire une majoration du risque de complications hématologiques au long cours. Le statut sérologique pour le virus EBV est également clairement établi, l'incidence de lymphomes étant significativement supérieure en cas de séronégativité (Caillard et coll., 2005 et 2006). Caillard et collaborateurs, en s'appuyant sur les données du registre USRDS (*United States Renal Data System*) de plus de 25 000 transplantés rénaux américains incluant 344 lymphomes, ont identifié des facteurs de risque significatifs : âge (moins de 20 ans), tumeurs pré-transplantation, statut HLA, rejet aigu au cours de la première année, statut EBV négatif du receveur avant greffe, utilisation d'OKT3 et d'ATG (en traitement d'induction ou de rejet), patients avec quadruple immunosuppression, patients traités par tacrolimus (*versus* ciclosporine) (Caillard et coll., 2005). À ces facteurs, Mc Laughlin avait rajouté l'hépatite C (Mc Laughlin et coll., 2000).

La signification pronostique d'un lymphome est un risque majeur de décès, la survie à 5 ans des transplantés rénaux passant de 80 % à 65 % pour les transplantés rénaux atteints de lymphome (Caillard et coll., 2005).

**En conclusion**, le pronostic des cancers chez les greffés reste péjoratif. À l'exception des cancers cutanés, ils signent souvent le raccourcissement de l'espérance de vie des patients. Leurs prises en charge thérapeutiques sont limitées, les transplantés supportant mal les chimiothérapies efficaces actuelles.

D'une manière générale, la réduction des immunosuppresseurs est le premier objectif de la prise en charge des cancers chez les transplantés. Cette réduction est d'autant plus importante qu'est mise en place une chimiothérapie. Aujourd'hui, il existe des molécules immunosuppressives moins cancérigènes que la combinaison ciclosporine-azathioprine qui dominait dans les années 1980-1990. L'apport du mycophénolate mofétil, des antagonistes de la protéine m-TOR (évérolimus, sirolimus) est probablement considérable mais reste à être confirmé par des études prospectives contrôlées, dont certaines sont déjà en cours. D'autres classes thérapeutiques immunosuppressives spécifiques de la relation hôte-greffon et donc moins susceptibles d'induire de dérégulations cellulaires sont actuellement en développement.

La standardisation des procédures de dépistage, la mise en place de centres de référence dermatologiques, l'augmentation de la précision de l'imagerie non invasive sont d'autres pistes permettant d'espérer pour les patients une meilleure et plus longue survie.

## BIBLIOGRAPHIE

ANDRES A. Cancer incidence after immunosuppressive treatment following kidney transplantation. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2005, **56** : 71-85

ARENDS M, BENTON E, MCLAREN K, STARK L, HUNTER J, BIRD C. Renal allograft recipients with high susceptibility to cutaneous malignancy have an increased prevalence of human papillomavirus DNA in skin tumours and a greater risk of anogenital malignancy. *Br J Cancer* 1997, **75** : 722-728

BERG D, OTLEY C. Skin cancer in organ transplant recipients: epidemiology, pathogenesis, and management. *J Am Acad Dermatol* 2002, **47** : 1-17

BOUWES BAVINCK JNB, HARDIE D, GREEN A, CUTMORE S, MACNAUGHT A, et coll. The risk of skin cancer in renal transplant recipients in queensland, australia: a follow-up study 1. *Transplantation* 1996, **61** : 715-721

BOUWES BAVINCK J, EUVRARD S, NALDI L, NINDL I, PROBY CM, et coll. Keratotic skin lesions and other risk factors are associated with skin cancer in organ-transplant recipients: a case-control study in The Netherlands, United Kingdom, Germany, France, and Italy. *J Invest Dermatol* 2007, **127** : 1647-1656

BUELL JF, GROSS TG, WOODLE S. Malignancy after transplantation. *Transplantation* 2005a, **80** (suppl 2) : S254-S264

BUELL J, PAPAConstantinou H, SKALOW B, HANAWAY M, ALLOWAY R, WOODLE E. De novo colorectal cancer: five-year survival is markedly lower in transplant recipients compared with the general population. *Transplantation Proceedings* 2005b, **37** : 960-961

CAFORIO A, FORTINA A, PIASERICO S, ALAIBAC M, TONA F, et coll. Skin cancer in heart transplant recipients: risk factor analysis and relevance of immunosuppressive therapy. *Circulation* 2000, **102** (19 Suppl 3) : III222-227

CAILLARD S, DHARNIDHARKA V, AGODOA L, BOHEN E, ABBOTT K. Posttransplant lymphoproliferative disorders after renal transplantation in the United States in era of modern immunosuppression. *Transplantation* 2005, **80** :1233-1243

CAILLARD S, LELONG C, PESSIONE F, MOULIN B. Post-transplant lymphoproliferative disorders occurring after renal transplantation in adults: report of 230 cases from the french registry. *American Journal of Transplantation* 2006, **6** : 2735-2742

CAMPISTOL J, ERIS J, OBERBAUER R, FRIEND P, HUTCHISON B, et coll. Sirolimus therapy after early cyclosporine withdrawal reduces the risk for cancer in adult renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2006, **17** : 581-589

COHEN E, KOMOROWSKI R, CLOWRY L. Cutaneous complications in renal transplant recipients. *Am J Clin Pathol* 1987, **88** : 32-37

COOPER S, WOJNAROWSKA F. The accuracy of clinical diagnosis of suspected premalignant and malignant skin lesions in renal transplant recipients. *Clinical & Experimental Dermatology* 2002, **27** : 436-438

DANTAL J, HOURMANT M, CANTAROVICH D, GIRAL M, BLANCHO G, et coll. Effect of long-term immunosuppression in kidney-graft recipients on cancer incidence: randomised comparison of two cyclosporin regimens. *Lancet* 1998, **351** : 623-628

DANTAL J, SOULILLOU J. Immunosuppressive drugs and the risk of cancer after organ transplantation. *N Engl J Med* 2005, **352** : 1371-1373

DUNN C, CROOM KF. Everolimus: a review of its use in renal and cardiac transplantation. *Drugs* 2006, **66** : 547-570

EUVRARD S, NOBLE C, KANITAKIS J, FRENCH M, BERGER F, et coll. Brief report: successive occurrence of T-cell and B-cell lymphomas after renal transplantation in a patient with multiple cutaneous squamous-cell carcinomas. *N Engl J Med* 1992, **327** : 1924-1926

EUVRARD S, KANITAKIS J, POUTEIL-NOBLE C, DUREAU G, TOURAINE JL, et coll. Comparative epidemiologic study of premalignant and malignant epithelial cutaneous lesions developing after kidney and heart transplantation. *J Am Acad Dermatol* 1995, **33** : 222-229

EUVRARD S, KANITAKIS J, THIVOLET J. Retinoids for the management of dermatological complications of organ transplantation. *Biodrugs* 1997, **3** : 176-184

EUVRARD S, KANITAKIS J, CLAUDY A. Skin cancers after organ transplantation. *N Engl J Med* 2003, **348** : 1681-1691

EUVRARD S, KANITAKIS J, DECULLIER E, BUTNARU AC, LEFRANÇOIS N, et coll. Subsequent skin cancers in kidney and heart transplant recipients after the first squamous cell carcinoma. *Transplantation* 2006, **81** : 1093-1100

FARGE D. Kaposi's sarcoma in organ transplant recipients. *Eur J Med* 1993, **2** : 339-343

GARG S, CARROLL R, WALKER R, RAMSAY H, HARDEN P. Skin cancer surveillance in renal transplant recipients: re-evaluation of U.K. practice and comparison with Australian experience. *British Journal of Dermatology* 2008, Epub ahead of print



GUBA M, VON BREITENBUCH P, STEINBAUER M, KOEHL G, FLEGEL S, et coll. Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor. *Nat Med* 2002, **8** : 128-135

GUTIERREZ-DALMAU A, CAMPISTOL JM. Immunosuppressive therapy and malignancy in organ transplant recipients. A systematic review. *Drugs* 2007, **67** : 1167-1198

HARDEN P, FRYER A, REECE S, SMITH A, RAMSAY H. Annual incidence and predicted risk of nonmelanoma skin cancer in renal transplant recipients. *Transplant Proc* 2001, **33** : 1302-1304

HARTEVELT M, BAVINCK J, KOOTTE A, VERMEER B, VANDENBROUCKE J. Incidence of skin cancer after renal transplantation in The Netherlands. *Transplantation* 1990, **49** : 506-509

HARWOOD C, SURENTERAN T, MCGREGOR J, SPINK PJ, LEIGH IM, et coll. Human papillomavirus infection and non-melanoma skin cancer in immunosuppressed and immunocompetent individuals. *J Med Virol* 2000, **61** : 289-297

HARZALLAH K, FRIMAT L, KESSLER M, GIRAL M, FOUCHER Y, et coll. Solid and skin tumors after kidney transplantation: which risk factors ? World Transplant Congress. *Boston Am J Transplant* 2006, **6** (suppl 2) : 1008

HOJO M, MORIMOTO T, MALUCCIO M, ASANO T, MORIMOTO K, et coll. Cyclosporine induces cancer progression by a cell-autonomous mechanism. *Nature* 1999, **397** : 530-534

ISMAIL F, MITCHELL L, CASABONNE D, GULATI A, NEWTON R, et coll. Specialist dermatology clinics for organ transplant recipients significantly improve compliance with photoprotection and levels of skin cancer awareness. *Br J Dermatol* 2006, **155** : 916-925

JENSEN P, HANSEN S, MØLLER B, LEIVESTAD T, PFEFFER P, et coll. Skin cancer in kidney and heart transplant recipients and different long-term immunosuppressive therapy regimens. *J Am Acad Dermatol* 1999, **40** : 177-186

KANITAKIS J, EUVRARD S, MONTAZERI A, GARNIER J, FAURE M, CLAUDY A. Atypical fibroxanthoma in a renal graft recipient. *J Am Acad Dermatol* 1996, **35** : 262-264

KASISKE B, RAMOS E, GASTON R, BIA MJ, DANOVITCH GM, et coll. The evaluation of renal transplant candidates: clinical practice guidelines. Patient Care and Education Committee of the American Society of Transplant Physicians. *J Am Soc Nephrol* 1995, **6** : 1-34

KASISKE B, SNYDER J, GILBERTSON D, WANG C. Cancer after kidney transplantation in the United States. *American Journal of Transplantation* 2004, **4** : 905-913

KREIS H, CISTERNE J, LAND W, WRAMNER L, SQUIFFLET JP, et coll. Sirolimus in association with mycophenolate mofetil induction for the prevention of acute graft rejection in renal allograft recipients. *Transplantation* 2000, **69** : 1252-1260

LEBBÉ C, EUVRARD S, BARROU B, POUTEIL-NOBLE C, GARNIER JL, et coll. Sirolimus conversion for patients with posttransplant Kaposi's sarcoma. *American Journal of Transplantation* 2006, **6** : 2164-2168

LIDDINGTON M, RICHARDSON A, HIGGINS R, ENDRE ZH, VENNING VA, et coll. Skin cancer in renal transplant recipients. *Br J Surg* 1989, **76** : 1002-1005

LINDELÖF B, SIGURGEIRSSON B, GÄBEL H, STERN R. Incidence of skin cancer in 5356 patients following organ transplantation. *British Journal of Dermatology* 2000, **143** : 513-519

MCLAUGHLIN K, WAJSTAUB S, MAROTTA P, ADAMS P, GRANT DR, et coll. Increased risk for posttransplant lymphoproliferative disease in recipients of liver transplants with hepatitis C. *Liver Transplantation* 2000, **6** : 570-574

NALDI L, FORTINA A, LOVATI S, BARBA A, GOTTI E, et coll. Risk of nonmelanoma skin cancer in Italian organ transplant recipients. A registry-based study. *Transplantation* 2000, **70** : 1479-1484

OPELZ G, DÖHLER B. Lymphomas after solid organ transplantation: a collaborative transplant study report. *Am J Transplant* 2004, **4** : 222-230

OTLEY C, COLDIRON B, STASKO T, GOLDMAN G. Decreased skin cancer after cessation of therapy with transplant-associated immunosuppressants. *Arch Dermatol* 2001, **137** : 459-463

PENN I. Malignant melanoma in organ allograft recipients. *Transplantation* 1996, **61** : 274-278

PESSIONE F, REBIBOU J. Incidence des cancers après greffe enregistrés dans la base CRISTAL. Lyon, Société Francophone de Transplantation, 2007

PURDIE K, SURENTERAN T, STERLING J, BELL L, MCGREGOR JM, et coll. Human papillomavirus gene expression in cutaneous squamous cell carcinomas from immunosuppressed and immunocompetent individuals. *J Invest Dermatol* 2005, **125** : 98-107

RAMSAY H, FRYER A, HAWLEY C, SMITH A, HARDEN P. Non-melanoma skin cancer risk in the Queensland renal transplant population. *British Journal of Dermatology* 2002, **147** : 950-956

RAMSAY H, REECE S, FRYER A, SMITH A, HARDEN P. Seven-year prospective study of nonmelanoma skin cancer incidence in U.K. renal transplant recipients. *Transplantation* 2007, **84** : 437-439

ROITHMAIER S, HAYDON A, LOI S, ESMORE D, GRIFFITHS A, et coll. Incidence of malignancies in heart and/or lung transplant recipients: a single-institution experience. *J Heart Lung Transplant* 2007, **26** : 845-849

SWERDLOW AJ, HIGGINS CD, HUNT BJ, THOMAS JA, BURKE MM, et coll. Risk of lymphoid neoplasia after cardiothoracic transplantation. a cohort study of the relation to Epstein-Barr virus. *Transplantation* 2000, **69** : 897-904

TAYLOR DO, EDWARDS LB, AURORA P, CHRISTIE JD, DOBBELS F, et coll. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-fifth official adult heart transplant report-2008. *J Heart Lung Transplant* 2008, **27** : 943-956

THAUNAT O, MORELON E. Cancers et immunosuppression : effet pro- et antitumoral des traitements immunosuppresseurs. *Néphrologie & Thérapeutique* 2005, **1** : 23-30

ULRICH C, KANITAKIS J, STOCKFLETH E, EUVRARD S. Skin cancer in organ transplant recipients-where do we stand today? *American Journal of Transplantation* 2008, **8** : 2192-2198

WALDER B, ROBERTSON M, JEREMY D. Skin cancer and immunosuppression. *Lancet* 1971, **2** : 1282-1283

WEBB MC, COMPTON F, ANDREWS PA, KOFFMAN CG. Skin tumours posttransplantation: A retrospective analysis of 28 years' experience at a single centre. *Transplantation Proceedings XVI International Congress of the Transplantation Society* 1997, **29** : 828-830

WONG G, CHAPMAN JR. Cancers after renal transplantation. *Transplantation Reviews* 2008, **22** : 141-149

---

# Synthèse

Malgré des progrès indéniables, la transplantation d'organes est confrontée à des obstacles récurrents. D'un point de vue médical, le principal obstacle est représenté par le système immunitaire du receveur qui met en place et coordonne un ensemble de mécanismes visant à détruire le greffon allogénique reconnu comme du non-soi. Si la réponse immune joue un rôle capital dans le rejet ou l'acceptation du greffon, de multiples mécanismes cellulaires et moléculaires conditionnent le devenir du greffon (annexe 2).

Pour contrôler les différentes formes de rejet, un large panel d'immunosuppresseurs a été développé depuis 40 ans. Conjugué à l'optimisation des techniques chirurgicales et des méthodes de conservation, le traitement par immunosuppresseurs a permis d'augmenter considérablement la survie des greffons.

Les immunosuppresseurs présentent néanmoins de nombreux inconvénients. L'étendue de la distribution tissulaire de leurs cibles de même que leur nature moléculaire sont à l'origine d'effets iatrogènes majeurs. L'immunosuppression généralisée altère les mécanismes d'immunosurveillance, augmentant la fréquence des infections et des cancers ainsi que la morbidité qui leur est associée. Les traitements immunosuppresseurs, efficaces pour lutter contre le rejet aigu, ont peu d'effet sur le rejet chronique. Face à ces limitations, la communauté scientifique tente de développer des stratégies visant à induire une tolérance vis-à-vis du greffon c'est-à-dire un état d'hyporéponse immunologique spécifique des alloantigènes. La majorité des approches reposent sur un concept commun : détourner les mécanismes de tolérance au soi de leur fonction première.

## Tolérance immunitaire en transplantation : mythe et réalités

Les progrès accomplis au cours des vingt dernières années dans le développement de nouveaux médicaments immunosuppresseurs ont permis de diminuer très significativement l'incidence du rejet aigu d'allogreffe. Cependant, l'incidence du rejet chronique (la perte de fonction du greffon à long terme) demeure très élevée tout comme la morbidité et la mortalité associées à l'utilisation chronique d'une lourde immunosuppression. Il semble qu'à l'avenir, le seul moyen pour s'affranchir de ces complications sera l'induction d'une tolérance d'allogreffe.

Au sens strict, la tolérance d'allogreffe est définie comme l'absence de réaction destructrice vis-à-vis des alloantigènes du greffon par le système immunitaire de l'hôte alors que sont préservées les réactions immunitaires spécifiques d'antigènes étrangers ou tumoraux. Cette définition, tout à fait valable dans le contexte expérimental, doit cependant être nuancée lorsqu'il s'agit de transfert à la clinique où il est difficile, voire impossible, de tester de manière directe la réactivité immunitaire du receveur vis-à-vis des alloantigènes du donneur. On parle donc de « tolérance opérationnelle » à savoir, une situation où l'on constate une survie fonctionnelle du greffon à long terme en l'absence d'immunosuppression chronique.

Chez l'animal, différentes stratégies thérapeutiques ont permis d'aboutir à une tolérance opérationnelle. Divers problèmes, d'ordre pratique et éthique, ont jusque-là empêché un transfert à la clinique des stratégies dont le but ultime est la suspension totale de tout traitement immunosuppresseur. À l'évidence, la manière la plus efficace d'aboutir à une tolérance de transplantation consiste en la possibilité d'exploiter certains des mécanismes immunologiques qui sous-tendent la tolérance immunitaire physiologique qui de fait est extrêmement efficace. Il s'agit de « reprogrammer » le système immunitaire afin que tout en reconnaissant les alloantigènes il ne génère pas à leur égard de réaction immunitaire « agressive ». Deux concepts semblent très prometteurs pour mettre en place des stratégies permettant d'aboutir à une tolérance en transplantation : la tolérance centrale<sup>23</sup> par déplétion des lymphocytes T alloréactifs et la tolérance périphérique<sup>24</sup> faisant intervenir des cellules T régulatrices (qui suppriment l'effet des lymphocytes T alloréactifs).

Dans les années 1950, le groupe de Peter Medawar en Grande-Bretagne réalisa les expériences qui lui valurent le Prix Nobel. Il montra que les souris nouveau-nées, dont le système immunitaire est encore immature, sont particulièrement sensibles à l'induction de la tolérance suite à l'injection de moelle osseuse ou de cellules allogéniques du donneur. Interviennent des mécanismes immunitaires qui combinent des phénomènes de tolérance centrale et de tolérance périphérique.

Reproduire un tel phénomène chez un individu adulte impliquerait un traitement de « conditionnement » drastique du receveur visant à l'élimination complète de tout son système hématopoïétique. Des stratégies que l'on peut définir comme « intermédiaires » ont été expérimentées chez l'animal. Elles consistent à inoculer des cellules de moelle osseuse du donneur chez un receveur pour lequel le « conditionnement » n'implique pas une myéloablation complète. Il s'agit de pratiquer une myéloablation partielle grâce à une

---

23. La tolérance centrale est établie au niveau des sites de développement initial des lymphocytes (thymus, moelle osseuse).

24. La tolérance périphérique est établie dans les organes lymphoïdes secondaires où a lieu la reconnaissance de l'antigène (rate, ganglions lymphatiques...).

irradiation corporelle à faible dose, associée à une irradiation de la loge thymique à plus forte dose suivie par un traitement de courte durée par un sérum polyclonal ou un anticorps monoclonal anti-lymphocytes. Après des années d'études effectuées tout d'abord chez la souris puis chez le singe, un protocole a été mis au point qui permet des survies de greffes d'organe à très long terme, voire indéfinies en l'absence de tout traitement immunosuppresseur. Une telle approche a récemment été appliquée en clinique chez un petit nombre de patients receveurs d'allogreffes rénales à partir de donneurs vivants haplo-identiques. Ces résultats préliminaires sont encourageants.

Chez la souris, il a été montré qu'un « conditionnement » adéquat du receveur par administration d'anticorps ciblant des récepteurs de surface lymphocytaires fonctionnellement importants pouvait favoriser l'induction d'une tolérance immunitaire vis-à-vis d'allogreffes de peau. Fait essentiel, chez les rongeurs la tolérance immunitaire peut être induite par ce type de stratégie chez des hôtes adultes thymectomisés prouvant ainsi que les mécanismes immunitaires sous-jacents relèvent d'une tolérance périphérique.

Ainsi, il apparaît possible de « reprogrammer » les fonctions du système immunitaire avec des produits biologiques (anticorps monoclonaux...). Suivant leur spécificité, ces produits pourront éliminer les cellules cibles ou inhiber leur fonction. Ils pourront également agir sur les signaux d'activation de certaines sous-populations lymphocytaires spécialisées ou encore neutraliser efficacement l'action de cytokines ou de chimiokines (qui interviennent par la suite dans les mécanismes de rejet).

Nombre de ces agents biologiques ont montré leur capacité à induire des lymphocytes T régulateurs. Il est fondamental de souligner qu'une déplétion lymphocytaire massive ne semble pas être un prérequis de l'induction de tolérance. En effet, de nombreux anticorps monoclonaux anti-lymphocytes T aux propriétés tolérogènes n'éliminent pas tous les lymphocytes T.

L'ensemble des données disponibles dans la littérature suggère que les mécanismes qui sous-tendent l'action tolérogène des produits biologiques relèvent en proportion différente suivant les agents d'une déplétion cellulaire et d'une immunorégulation impliquant à la fois une déviation immune et/ou une induction de lymphocytes T régulateurs.

Il est important de noter que la production d'anticorps monoclonaux humanisés, voire même humains, qui sont moins immunogènes et mieux tolérés que la première génération d'anticorps introduits en clinique permet une utilisation beaucoup plus large de ces outils thérapeutiques.

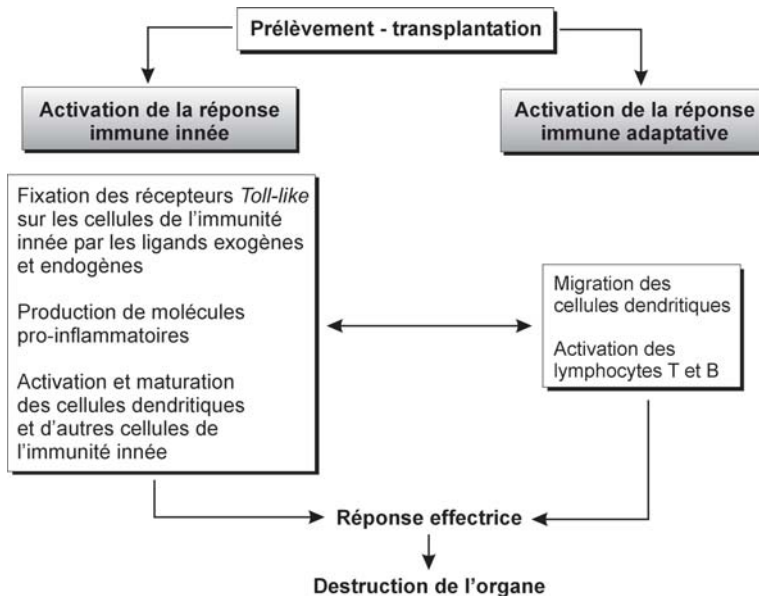
La culture *in vitro* de sous-populations spécialisées de cellules immunitaires pouvant être infusées chez les patients transplantés dans un but de « conditionnement » représente une thérapeutique émergente qui a grandement bénéficié de l'expérience acquise en immunothérapie des tumeurs. Les deux types cellulaires qui suscitent le plus grand intérêt sont les cellules

dendritiques tolérogènes et les lymphocytes T régulateurs. Si la plupart des études se sont concentrées sur l'utilisation des cellules dendritiques provenant du donneur, il existe également des données montrant la forte capacité immunorégulatrice de cellules dendritiques de phénotype receveur lorsqu'elles sont prétraitées de manière adéquate. Une autre option est la culture et l'expansion des lymphocytes T régulateurs. Ainsi, des données récentes montrent que ces cellules, naturelles ou adaptatives, peuvent être cultivées *in vitro* dans le but d'augmenter leur nombre tout en conservant leurs capacités de suppression.

## Rejet aigu d'allogreffe : interaction entre réponse innée et adaptative

Le rejet aigu d'allogreffe reste un problème majeur en transplantation d'organes solides car ce rejet peut conduire à une perte de fonction de la greffe, aiguë ou chronique. Il survient une semaine à plusieurs mois après la transplantation.

Deux mécanismes immunologiques généraux sont mis en jeu au cours du rejet aigu d'allogreffe : la réponse immune innée non spécifique, qui prédomine dans la phase précoce de la réponse immune, et la réponse immune adaptative, spécifique du donneur et résultant de la reconnaissance des alloantigènes par les lymphocytes T du receveur.



Immédiatement après transplantation, des lésions causées à la greffe par la procédure de prélèvement et le processus d'ischémie/reperfusion et indépendantes d'antigène induisent une immunogénicité de l'organe. La réponse innée est initiée par les signaux de danger qui activent les cellules présentatrices de l'antigène, les cellules dendritiques du greffon, conduisant à leur différenciation et leur migration vers les organes lymphoïdes du receveur.

De cette façon, les lymphocytes T et B naïfs alloréactifs vont être stimulés et devenir des effecteurs de la réponse adaptative. Les lymphocytes B vont produire des alloanticorps et les lymphocytes T vont migrer au niveau du greffon. D'autres cellules de l'immunité innée comme les polynucléaires neutrophiles, les macrophages et les lymphocytes NK (*natural killer*) vont rapidement infiltrer la greffe en réponse aux stimuli inflammatoires et induire des lésions via la production de molécules pro-inflammatoires, directement ou en amplifiant et soutenant la réponse T adaptative. L'attraction de cellules mononuclées (monocytes, macrophages...) aux sites de l'inflammation nécessite une interaction étroite entre signaux inflammatoires et chimiokines. L'inhibition des chimiokines et de leurs récepteurs a montré une prolongation de la survie de l'allogreffe.

Lors de la réponse adaptative, différents antigènes peuvent être reconnus par les lymphocytes T du système immunitaire de l'hôte : les alloantigènes majeurs du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I et II du donneur (dénommés HLA chez l'homme), les alloantigènes mineurs (allopeptides présentés par les molécules de classe I ou II) du receveur et les autres antigènes comme les autoantigènes ou les antigènes viraux reconnus par réaction croisée avec des alloantigènes.

Plusieurs types cellulaires interviennent dans le rejet aigu d'allogreffe. Les lymphocytes T CD4 (Th1, Th2 et aussi Th17) et les lymphocytes T CD8 contribuent à ce rejet. Les lymphocytes T CD8 cytotoxiques interviennent dans la réponse effectrice et les lymphocytes T CD8 mémoires (Tm) dans des réponses croisées. La présence de cellules Tm chez le receveur avant la greffe entraîne une augmentation de la fréquence et de l'ampleur des épisodes de rejet aigu. Les mécanismes par lesquels les cellules Tm reconnaissent des alloantigènes pourraient faire intervenir la réactivité croisée des alloantigènes avec des agents infectieux ou la prolifération homéostatique (prolifération des lymphocytes T en conditions de lymphopénie).

Récemment, un rôle important a été décrit pour les lymphocytes B et les alloanticorps. L'importance des alloanticorps dirigés contre le donneur dans l'induction de rejets aigus a été montrée grâce à l'utilisation de méthodes de détection particulièrement sensibles, d'anticorps anti-donneur. Il s'agit par exemple du marquage C4d en immunofluorescence des capillaires péri-tubulaires dans les biopsies rénales (suggérant le rôle des anticorps capables d'activer le complément). Cette analyse pourrait être importante dans le suivi des patients et permettrait d'ajuster les traitements. Des critères pour le



diagnostic du rejet aigu humoral en transplantation rénale ont été récemment établis par le *Banff working group*. Il s'agit de critères morphologiques, immunohistologiques (dépôts de C4d...) et sérologiques.

Selon la « théorie humorale en transplantation », ce sont les anticorps produits par les cellules qui détruisent la greffe. Si les anticorps sont les effecteurs du rejet, leur élimination devrait permettre de diminuer le traitement immunosuppresseur. Les anticorps le plus souvent retrouvés chez les patients sont ceux qui reconnaissent les antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité HLA, les antigènes mineurs apparentés HLA et également des antigènes non-HLA comme ceux du groupe sanguin ABO. La présence de ces anticorps anti-donneur est associée à un mauvais pronostic pour la survie de la greffe.

## **Rejet chronique : un déséquilibre entre agression et adaptation**

Si l'organe greffé survit au rejet aigu, les fonctions du greffon peuvent apparaître normales pendant une période plus ou moins longue. Un rejet chronique survient chez environ 50 % des patients transplantés. Depuis le début des années 1980, la survie à un an des greffons rénaux a augmenté de manière très significative, atteignant maintenant plus de 90 %. Néanmoins, les résultats à long terme ont peu changé et surtout le pourcentage de greffons perdus chaque année après la première année de transplantation n'a pas évolué.

Le rejet chronique est caractérisé par une occlusion, lente et constante des artères, des veines et des autres structures tubulaires du tissu greffé. L'occlusion vasculaire cause une ischémie conduisant à la nécrose et la fibrose tissulaire. La compréhension des mécanismes impliqués dans la survenue du rejet chronique a grandement progressé grâce aux modèles animaux (chez le rongeur) permettant de recréer les lésions d'artérite cellulaire dans différents modèles de greffe de cœur ou de vaisseaux allogéniques. Ainsi, il a pu être mis en évidence au cours du rejet chronique une augmentation de l'intima entraînant une diminution du calibre des vaisseaux, puis une destruction de la limitante élastique interne (l'une des trois couches de l'intima). L'épaississement est lié à une accumulation de matrice extracellulaire et à la prolifération de cellules myofibroblastiques.

L'implication des lymphocytes dans la genèse des lésions de rejet chronique a été déterminée grâce à l'étude de souris génétiquement invalidées. Ces modèles montrent que les lymphocytes T activés sont nécessaires pour l'initiation du phénomène de rejet chronique. L'existence de dépôts de C4d en immunofluorescence suggère le rôle des anticorps anti-HLA capables d'activer le complément. Cependant, la survenue d'un rejet chronique n'est

pas simplement le passage d'un état d'acceptation à une situation de rejet chronique mais un continuum entre ces deux états, fondé sur un équilibre subtil entre des facteurs d'agression (lymphocytes T cytotoxiques, anticorps, complément...) et des mécanismes de survie et d'adaptation des cellules cibles.

Outre activer le complément, les anticorps peuvent se lier aux molécules de surface des cellules cibles ou bien recruter d'autres cellules. Une étape d'activation des cellules endothéliales est associée à l'expression de différents récepteurs à la surface de ces cellules, à la synthèse de nombreux facteurs de croissance et d'endothéline I. L'endothéline I favorise la stimulation des cellules musculaires lisses et indirectement la synthèse locale d'angiotensine II. Elle entraîne également le recrutement local de cellules inflammatoires, active la coagulation en favorisant l'adhésion plaquettaire et en libérant du thromboxane A<sub>2</sub>. Enfin, elle stimule la différenciation et la prolifération des cellules qui synthétisent la matrice extracellulaire impliquée dans les lésions de rejet chronique, les myofibroblastes.

La présence d'anticorps anti-HLA de classe I et plus particulièrement de classe II est un facteur de risque indépendant de rejet chronique. Chez les transplantés rénaux, plus de 80 % des patients avec une glomérulopathie d'allogreffe ont des anticorps anti-HLA dont 85 % sont dirigés contre un antigène de classe I ou de classe II. Cependant, d'autres anticorps (*MHC class I-related molecules A and B*, anti-cellules endothéliales, anti-vimentine...) sont également associés aux changements structurels observés au cours du rejet chronique. Ainsi, des antigènes mineurs peuvent stimuler l'expression extracellulaire d'un certain nombre de constituants du cytosquelette aboutissant à une stimulation lymphocytaire.

Les cellules fibroblastiques sont des constituants importants des lésions de rejet chronique. Elles peuvent avoir plusieurs origines : la différenciation de cellules souches circulantes en cellules endothéliales ou en myocardiocytes ; la transdifférenciation de cellules endothéliales différenciées en cellules myofibroblastiques ; la transdifférenciation de cellules épithéliales (tubulaires rénales) en myofibroblastes.

Cette différenciation des cellules en myofibroblastes et leur expansion impliquent de nombreux facteurs de croissance qui participent à des degrés divers à l'initiation de la transdifférenciation épithélio-mésenchymateuse, à l'expansion de ces cellules et à leur migration. Le facteur actuellement le plus étudié est le TGF- $\beta$  (*Transforming Growth Factor- $\beta$* ). D'autres facteurs de croissance (*Hepatocyte Growth Factor*, *Bone Morphogenic Protein*) ont une activité antagoniste à celle de l'action du TGF- $\beta$  soit en bloquant les voies d'activation du TGF- $\beta$  soit en permettant aux cellules myofibroblastiques de réacquérir un phénotype de cellules épithéliales. Ainsi, la perfusion de l'un de ces facteurs (*Bone Morphogenic Protein*) dans un modèle de rejet chronique permet d'inhiber la survenue du rejet chronique.

Des molécules impliquées dans l'activation des cellules endothéliales pourraient également avoir un rôle de starter ou intervenir pour pérenniser les lésions de rejet chronique. C'est le cas de l'endothéline I et de l'angiotensine II. Récemment, il a été mis en évidence que la présence d'anticorps dirigés contre le récepteur de l'angiotensine II est associée à la survenue d'un rejet chronique.

Au cours des différentes agressions immunologiques et non immunologiques, les cellules endothéliales vont être responsables du développement d'une matrice extracellulaire par la synthèse de facteurs de croissance ou de cytokines. La matrice extracellulaire accumulée constitue une lésion de fibrose. Cette lésion peut être prévenue ou dégradée en utilisant des molécules bloquantes ou en activant différentes protéases tissulaires dont les métallo-protéases. Ces approches restent à valider dans des modèles cliniques.

Un certain nombre de facteurs de risque cliniques ont été associés à une dysfonction de greffon. Ainsi, la greffe d'un organe provenant d'un donneur âgé est associée à une augmentation de l'incidence de rejet aigu et chronique. Ceci est corrélé avec l'apparition d'une sénescence de l'organe aboutissant à la libération de cytokines pro-inflammatoires, l'expression de molécules pouvant directement ou indirectement induire des néo-antigènes. Par ailleurs, différentes situations de stress provoquées par l'ischémie ou des infections (virales, bactériennes, fongiques...) peuvent contribuer à ce rejet. La régulation locale de l'immunité innée devrait permettre de limiter l'impact de ces événements sur la survenue d'un rejet chronique.

## **Prévention et traitement des rejets : l'immunosuppression**

Quel que soit l'organe considéré, le traitement des rejets repose avant tout sur la prévention puis sur le traitement curatif en cas d'insuffisance de cette prévention.

La prévention des rejets repose sur un traitement immunosuppresseur, adapté principalement au risque « immunologique » (antécédents d'immunisations par transfusion, greffes...) du receveur. Ce traitement immunosuppresseur comprend l'association de plusieurs drogues de mécanismes différents mais le plus souvent à l'heure actuelle, il s'agit d'une anticalcineurine. Pour renforcer le niveau global de l'immunosuppression, un traitement d'induction<sup>25</sup> par un immunosuppresseur biologique (anticorps anti-lymphocyte ou anti-récepteur de l'interleukine 2) est souvent prescrit à la période initiale pendant quelques semaines. Il permet une introduction retardée des anticalcineurines néphrotoxiques.

---

25. Il s'agit d'un traitement qui est censé diminuer l'incidence du rejet aigu dans les 3 mois qui suivent la transplantation.

## Agents immunosuppresseurs utilisés en transplantation d'organes solides

Classe de l'agent immunosuppresseur	Agent immunosuppresseur
Corticostéroïde	Prednisolone Prednisone Méthyl prednisolone
Anti-prolifératif	Azathioprine Mycophénolate mofétil Mycophénolate sodium
Inhibiteur de la calcineurine	Ciclosporine Tacrolimus
Inhibiteur de TOR	Sirolimus Éverolimus
Anticorps polyclonaux anti-lymphocyte	ALG ATG ALS
Anticorps monoclonaux	Muromonab-CD3 Basiliximab Daclizumab

La prévention est à l'heure actuelle efficace puisque l'incidence du rejet aigu est inférieure à 15 %. La place des inhibiteurs de mTOR (*mammalian target of rapamycin*) dans le traitement du rejet est encore mal codifiée sauf peut-être en transplantation cardiaque où ces nouveaux immunosuppresseurs pourraient empêcher l'évolution du myocarde greffé vers une vasculopathie.

Le traitement curatif du rejet aigu est actuellement relativement homogène. En ce qui concerne le rejet aigu cellulaire, il s'agit de stéroïdes à fortes doses dans les formes de rejet les moins sévères et d'anticorps anti-lymphocyte dans les formes sévères. En ce qui concerne le rejet aigu humoral, il s'agit d'un traitement non standardisé associant stéroïdes, échanges plasmatiques, immunoglobulines (à usage intra-veineux) et anticorps anti-CD20. Des progrès sont nécessaires pour la mise à disposition de nouveaux traitements plus spécifiques et mieux tolérés du rejet aigu cellulaire, la standardisation du traitement du rejet humoral (études en cours) et la mise à disposition de molécules réellement efficaces sur les plasmocytes et les lymphocytes B mémoires ainsi que sur la réponse effectrice dépendant du complément.

Le traitement du rejet chronique reste balbutiant et repose sur la possibilité de clairement définir le rejet chronique et de séparer les mécanismes immunologiques et non immunologiques dans le but d'établir la nécessité d'une augmentation voire une modification de l'immunosuppression ou au contraire un allègement. L'analyse histologique précise des biopsies de greffon, orientée par un signe clinique ou biologique ou dans un but de dépistage devrait permettre de mieux comprendre la physiopathologie de ce type de

rejet et donc permettre un traitement plus adapté. Pour affiner cette classification histologique, il convient également de développer et de valider tout type de biomarqueurs, de définir des biomarqueurs de fibrose ou de fibrogenèse de rejet chronique voire de néphrotoxicité ou d'infection virale. Des outils existent et des essais sont en cours.

## **Optimisation du traitement : adaptation et individualisation de l'immunosuppression**

La recherche d'une optimisation de l'immunosuppression repose à l'heure actuelle sur plusieurs stratégies : l'éviction des drogues les moins bien tolérées (anticalcineurine et stéroïdes) ; l'utilisation optimale des drogues disponibles (adaptation pharmacologique) ; l'individualisation du traitement grâce à la pharmacogénétique notamment ; des stratégies d'induction ou de dépistage d'une tolérance.

Les quelques études sur la minimisation des doses d'anticalcineurines ont montré que cette approche n'entraîne pas d'augmentation de l'incidence de rejet aigu ; en revanche, les résultats en termes d'amélioration de la fonction rénale restent mitigés.

Les stratégies de conversion consistent à diminuer progressivement les doses d'anticalcineurines jusqu'à l'arrêt en remplaçant cette classe d'immunosuppresseurs par un immunosuppresseur non néphrotoxique. Chez les patients avec une fonction rénale stable, cette stratégie a été utilisée tout d'abord avec le mycophénolate mofétil, à distance de la transplantation (conversion tardive). L'amélioration de la fonction rénale observée n'était pas compensée par les conséquences du sur-risque de rejet induit par l'interruption des anticalcineurines. Des résultats suggèrent que le bénéfice principal de l'arrêt des anticalcineurines et d'une conversion tardive par le sirolimus (inhibiteur de mTOR) non néphrotoxique est une diminution significative et précoce de l'incidence des cancers. Par ailleurs, l'arrêt précoce de la ciclosporine (anticalcineurine) et son remplacement par le sirolimus entraînent certes une amélioration de la fonction du greffon mais au prix d'une augmentation de l'incidence de rejet aigu. Enfin, dans le cadre des études de conversion chez les patients présentant une dysfonction chronique du transplant, le remplacement précoce de la ciclosporine par le mycophénolate mofétil stabilise ou améliore la fonction rénale.

Concernant les stratégies de non introduction d'emblée des anticalcineurines, il semble qu'à l'heure actuelle la place des inhibiteurs de mTOR utilisés aussitôt après la transplantation soit très restreinte en raison d'une augmentation significative de l'incidence du rejet aigu. Le belatacept, une molécule qui bloque le signal de co-stimulation entre cellule dendritique et

lymphocyte T, est porteuse d'avenir et est actuellement testée chez des patients à faible risque immunologique, chez les patients à haut risque de néphrotoxicité des anticalcineurines ainsi qu'en conversion tardive chez des patients stables.

La grande majorité des études publiées sur la réduction des stéroïdes montrent certes un bénéfice en termes de moindre incidence des complications telles que les dyslipidémies, l'hypertension artérielle mais également une augmentation d'incidence d'épisodes de rejet aigu qui ne s'accompagne pas toujours d'une influence délétère sur la survie du greffon à moyen terme.

Les stratégies d'induction de tolérance ont pour objet d'obtenir l'interruption de l'immunosuppression après transplantation en raison d'une tolérance spécifique du receveur vis-à-vis du donneur. La diminution de la toxicité des différentes drogues est évidemment un bénéfice considérable en plus de la disparition des manifestations de sur-immunosuppression que sont les infections et les cancers. En 2008, plusieurs cas ont été rapportés qui s'apparentent à une véritable induction de tolérance chez le receveur de greffe et qui suscitent beaucoup d'espoir.

Les ressources de la pharmacologie (pharmacocinétique, pharmacodynamie, pharmacogénétique) ont également été utilisées pour adapter au mieux les traitements immunosuppresseurs avec le double objectif de limiter leur toxicité et d'en individualiser la posologie. Les anticalcineurines sont des médicaments à spectre thérapeutique étroit, ce qui signifie que la limite entre efficacité et toxicité est étroite. De plus, il existe une importante variabilité intra-individuelle et inter-individuelle. L'évaluation de l'aire sous la courbe comme indicateur de l'exposition aux immunosuppresseurs (pharmacocinétique) a été utilisée en particulier dans le cas du mycophénolate mofétil avec des résultats encore controversés quant au bénéfice en termes de diminution de l'incidence de rejet aigu. La pharmacogénétique qui étudie l'influence de la variabilité génétique au niveau de certains gènes du métabolisme sur l'action des immunosuppresseurs, est probablement plus novatrice même si son application en transplantation est encore balbutiante. En présence de certains allèles (*CYP3A*), la dose de tacrolimus nécessaire à l'obtention d'un taux compris dans la fenêtre thérapeutique est plus ou moins importante. Il reste désormais à définir le rôle exact de ces interactions en pratique clinique, en termes de rapidité de reprise de fonction et de prévention précoce du rejet aigu.

Ces nouvelles technologies devraient permettre une meilleure individualisation des traitements immunosuppresseurs non seulement pour en prévoir la toxicité et l'efficacité mais aussi pour obtenir une meilleure adaptation finale.

## Nouveaux immunosuppresseurs : d'autres critères d'efficacité

Les limites actuelles des traitements immunosuppresseurs sont l'absence d'efficacité sur le rejet chronique, une efficacité moindre sur le rejet humoral que sur le rejet cellulaire, leur toxicité globale et surtout rénale. De plus, l'augmentation du niveau d'immunosuppression peu spécifique et les propriétés intrinsèques de certaines drogues favorisent l'apparition de cancers après la greffe. Ce risque est d'autant plus important que la population des receveurs vieillit et est exposée davantage au risque de cancer. Par ailleurs, le nombre de patients immunisés à haut risque immunologique en attente de greffe augmente, et l'utilisation de greffons dits « marginaux », particulièrement sensibles à la néphrotoxicité des immunosuppresseurs, est de plus en plus courante dans une période de pénurie d'organe.

Par conséquent, les caractéristiques demandées aux nouveaux immunosuppresseurs sont un nouveau mode d'action complémentaire de ceux déjà existants, un bon rapport bénéfice/risque, l'absence de néphrotoxicité, une efficacité sur le rejet aigu et chronique, et des propriétés anti-tumorales, ou l'absence d'effet pro-tumoral. De façon plus précise, il est nécessaire de disposer d'immunosuppresseurs contrôlant les cellules mémoires, bloquant la synthèse des alloanticorps, inhibant les processus d'extension du rejet chronique. Enfin, nous avons besoin de drogues pouvant induire la tolérance, et, au minimum ne bloquant pas l'induction de tolérance.

Le développement clinique des immunosuppresseurs obéit aux règles complexes de la recherche clinique et aux règlements des agences nationales de santé. Un grand nombre de molécules prometteuses au stade des études *in vitro* et en expérimentation animale ne recevront pas d'autorisation de mise sur le marché chez l'homme en raison de leurs effets secondaires, parfois découverts tardivement, ou de leur faible ratio bénéfice/risque. Les drogues en cours d'évaluation peuvent aussi subir le même sort tant que les résultats des études de phase III ne sont pas connus.

### Immunosuppresseurs en développement

Molécules	Type	Stade du développement
ISA 247	Inhibiteur signal 1 Analogie de la ciclosporine	Phase III en transplantation rénale
AEB 071	Inhibiteur signal 1, signal 2 Inhibiteur de la protéine kinase C	Phase II
Bélatacept	Inhibiteur signal 2 Molécule de fusion entre CTLA4 et une IgG1	Phase III en transplantation rénale
CP 690, 550 et le NC 1153	Inhibiteur signal 3 Inhibiteur de JAK3	Phase II
Anti-CD3 humanisés	Inhibiteur signal 1	Phase II en transplantation rénale
Alemtuzumab	Anticorps monoclonal humanisé anti-CD 52	–
Rituximab	Anticorps anti-CD 20	–

L'ISA 247 est un analogue de la ciclosporine, inhibiteur du signal 1 d'activation lymphocytaire. Il semble avoir une efficacité supérieure à celle de la ciclosporine dans la prévention du rejet aigu et une moindre néphrotoxicité. Il est en développement dans le psoriasis et en transplantation rénale. Il reste à démontrer si les avantages décrits sont retrouvés dans une grande population de patients.

L'AEB 071 est un puissant inhibiteur de la protéine kinase C. Il inhibe les signaux de transduction via le récepteur des lymphocytes T (signal 1) et via le co-récepteur CD28 (signal 2). Disponible par voie orale, il a une bonne tolérance clinique. Les essais cliniques de phase II sont en cours, en combinant l'AEB 071 avec l'évérolimus, le tacrolimus, et le mycophénolate mofétil. La tolérance clinique semble bonne et l'AEB 071 ne semble pas néphrotoxique. Il se place donc en bonne position pour remplacer les inhibiteurs de la calcineurine.

Le bélatcept est une molécule de fusion entre CTLA4 et une IgG1, modifiée pour augmenter l'affinité pour CD80/CD86. Il bloque spécifiquement le signal 2 et est actuellement en phase III des essais cliniques. Un essai clinique de phase II en transplantation rénale a montré une efficacité sur le rejet aigu similaire à celle de la ciclosporine, sans néphrotoxicité. Les points forts de cette molécule de fusion sont : le mode d'action original, son efficacité et sa très bonne tolérance clinique et son potentiel pour l'induction de tolérance. Son point faible est la voie d'injection parentérale, qui pourrait cependant avoir un intérêt pour augmenter l'observance thérapeutique. Il n'a pas d'efficacité spécifique dans le rejet chronique, et n'a pas d'efficacité anti-tumorale.

Les inhibiteurs de tyrosine kinase JAK 3, le CP 690,550 et le NC 1153 inhibent la transduction du signal médiée par les 5 récepteurs des cytokines à IL-2, IL-7, IL-9, IL-15, IL-22. Le mode d'action est original et spécifique des cellules du système immunitaire. Les études précliniques montrent une efficacité similaire à celle de la ciclosporine pour la prévention du rejet aigu. Les études cliniques sont en phase II. La limitation principale est une anémie liée au blocage croisé de la tyrosine kinase JAK 2, associée au récepteur de l'érythropoïétine.

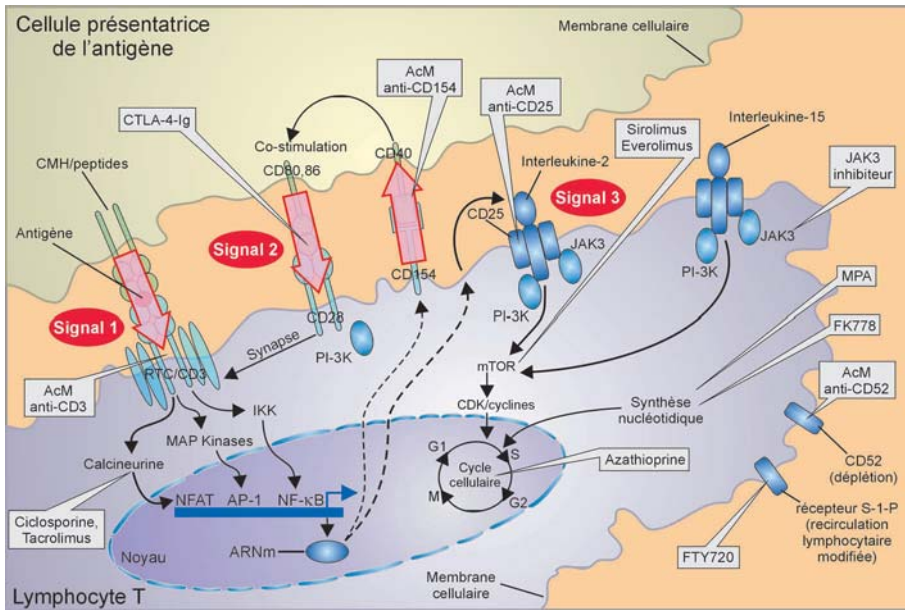
Les anti-CD3 humanisés, non mitogéniques, ont un potentiel important dans la prévention et le traitement du rejet aigu en transplantation d'organes, et le traitement de maladies auto-immunes à médiation cellulaire comme le diabète auto-immun. Bien tolérés, ils sont actuellement en phase II/III pour le diabète auto-immun et en phase II dans le traitement du rejet d'allogreffe rénal. Les anti-CD3 humanisés induisent la tolérance dans les modèles murins en favorisant l'émergence de cellules lymphocytaires T régulatrices, ce qui en fait de futurs immunosuppresseurs très prometteurs.

L'Alemtuzumab est un anticorps monoclonal humanisé anti-CD52, déplétant les lymphocytes T, les lymphocytes B et les monocytes. Il est utilisé en traitement d'induction et dans le traitement des rejets aigus corticorésistants. Il permet de réduire les doses d'immunosuppresseurs d'entretien, anticalcineurines



et corticoïdes. Des études contrôlées prospectives comparatives avec la thymoglobuline ou les anticorps anti-récepteurs de l'IL-2 sont nécessaires pour définir sa place dans les traitements d'induction en transplantation.

Le rituximab est un anticorps anti-CD 20 déplétant les lymphocytes B par apoptose. Il entraîne une lymphopénie profonde et durable en périphérie. Très utilisé depuis 4 ans pour le traitement des maladies auto-immunes médiées par anticorps, il pourrait diminuer la synthèse des anticorps anti-HLA. Son efficacité doit être confirmée par des études prospectives randomisées, non disponibles à l'heure actuelle.



**Sites d'action des immunosuppresseurs au cours de la réponse immune (d'après Halloran, 2004)**

AP-1 : *activating protein-1* ; CDK : *cyclin-dependent kinase* ; CMH : *complexe majeur d'histocompatibilité* ; IKK : *IκB kinase* ; JAK3 : *Janus kinase 3* ; mTOR : *mammalian-target-of-rapamycin* ; NFAT : *nuclear factor of activated T cells* ; NF-κβ : *nuclear factor-κβ* ; PI-3K : *phosphoinositide-3-kinase* ; RCT : *récepteur de la cellule T* ; S-1-P : *sphingosine-1-phosphate*

Les critères d'évaluation de l'efficacité utilisés pour le développement des nouveaux immunosuppresseurs au cours des 15 dernières années doivent être modifiés en raison de l'amélioration des résultats de la transplantation et de la diminution de l'incidence du rejet aigu, critère principal d'efficacité dans la majorité des études. Des critères composites d'efficacité doivent permettre d'évaluer à court terme l'évolution des greffons à long terme et aussi de prendre en compte la fonction de l'organe greffé, l'histologie sur des biopsies systématiques et les biomarqueurs provenant de la génomique. Des études prospectives, actuellement en cours, permettront de valider ces biomarqueurs.

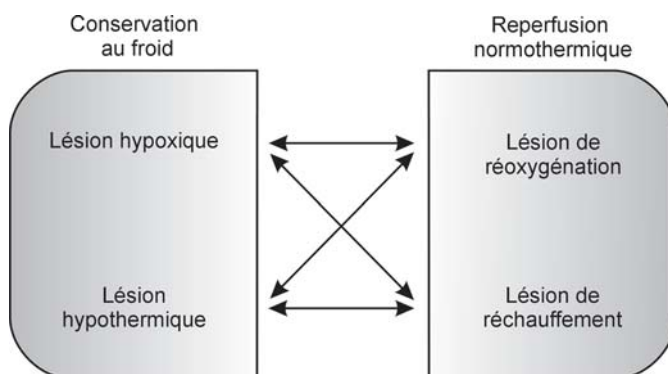
La durée des études devrait être d'au moins trois ans pour l'évaluation du rejet chronique. La toxicité des immunosuppresseurs, tout particulièrement la néphrotoxicité, devra également faire partie des critères principaux. Enfin, les immunosuppresseurs futurs pourraient être évalués sur des populations ciblées, telles que les receveurs à haut risque immunologique, les receveurs âgés, les patients recevant un greffon marginal.

## Syndrome d'ischémie/reperfusion : quels mécanismes ?

Les étapes de transplantation qui vont du prélèvement chez le donneur et de la conservation de l'organe à greffer (phase d'ischémie) jusqu'à son implantation chez le receveur (reperfusion) s'accompagnent d'altérations du greffon au niveau moléculaire, cellulaire et tissulaire. Les processus physiopathologiques responsables des lésions du greffon sont définis comme le syndrome d'ischémie/reperfusion (I/R) en transplantation d'organes. Le syndrome d'I/R se traduit par une altération de la fonction de l'organe, en partie liée à une vasoconstriction persistante perturbant la régulation du flux sanguin.

Les dommages engendrés par l'ischémie/reperfusion favorisent le rejet aigu et participent au développement des lésions chroniques du greffon. L'effet le plus tangible de l'I/R est la reprise différée de fonction du greffon. L'I/R a également un impact significatif sur la défaillance primaire du greffon, incompatible avec la survie du receveur et dont le seul traitement est la retransplantation.

Le syndrome d'ischémie/reperfusion est lié à l'hypothermie et à l'hypoxie de l'organe pendant la conservation mais également à la réoxygénation au cours de la reperfusion. Il faut préciser que ce syndrome intègre également les lésions pouvant apparaître chez le donneur au cours du passage en mort cérébrale, qui induit l'apparition de lésions pro-inflammatoires et une activation des cellules endothéliales.



Origines des lésions d'ischémie/reperfusion du greffon

Le maintien de la viabilité du greffon au cours de son transfert ischémique du donneur vers le receveur repose principalement sur l'hypothermie, intentionnellement appliquée pour réduire l'activité métabolique. Les durées d'ischémie froide tolérées sont différentes selon les organes : 24 heures pour le rein ; 10 à 12 heures pour le foie, 8 heures maximum pour le poumon et 6 heures pour le cœur. L'ischémie froide prolongée est un facteur de risque indépendant de non-fonctionnement ou de dysfonctionnement du greffon. Des données montrent par exemple que la survie à 5 ans des greffons hépatiques est de 57 % lorsque l'ischémie froide dépasse 15 heures contre 67 % lorsque l'ischémie froide est inférieure à 12 heures.

L'utilisation potentielle d'organes de donneurs plus âgés ou de donneurs à cœur arrêté pour augmenter le nombre de greffons disponibles, demande des moyens de préservation adaptés et plus performants, fondés sur une meilleure connaissance des mécanismes cellulaires et moléculaires associés à l'I/R.

Bien que fondamental, le refroidissement des organes a des conséquences délétères pour les tissus, dues au stress oxydant (production d'espèces réactives de l'oxygène) et à l'inflammation (production de cytokines) probablement responsable de l'aggravation mais surtout de la persistance de cette pathologie. D'importantes modifications structurelles du cytosquelette aboutissent à la dislocation des cellules endothéliales.

Au niveau cellulaire, plusieurs voies métaboliques sont affectées : inhibition de la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase à l'origine de l'œdème cellulaire, réduction rapide des réserves en ATP, troubles de l'homéostasie du calcium et glycolyse anaérobie responsable de l'acidose intracellulaire. L'augmentation de la concentration de  $\text{Ca}^{2+}$  entraîne une dysfonction de la mitochondrie en perturbant sa perméabilité membranaire.

Selon le niveau d'ATP résiduel (dépendant de la durée d'ischémie), cette dysfonction se traduira par une apoptose ou une nécrose. La concentration en ATP joue ainsi le rôle de « commutateur » entre ces deux types de mort cellulaire. Lorsque la transition de perméabilité membranaire mitochondriale s'accompagne d'une déplétion en ATP (ischémie prolongée), le signal de l'apoptose est bloqué et la nécrose survient. *A contrario*, si des substrats glycolytiques sont disponibles, la déplétion profonde en ATP est prévenue et le processus s'engage vers la voie de l'apoptose.

Les quelques études moléculaires sur l'expression de gènes durant l'I/R se sont focalisées sur la phase de reperfusion. Elles ont mis en évidence le rôle de certaines voies de signalisation telles que les voies pro- ou anti-apoptotiques, celle de HIF (*Hypoxia Inducible Factor*) ou de l'hème-oxygénase 1.



## Syndrome d'ischémie/reperfusion : stratégies thérapeutiques

Les moyens thérapeutiques actuellement disponibles pour prévenir le syndrome d'I/R sont principalement l'hypothermie à 4°C et la composition des solutions de conservation. Cependant, il faut considérer plusieurs facteurs limitants : les effets indésirables de l'hypothermie elle-même, l'absence de moyens simples et rapides d'évaluation de la viabilité des organes, l'aspect inévitable de l'I/R, l'existence d'une hypoxie et du réchauffement. Les performances de la conservation en ischémie froide reposent essentiellement sur l'inhibition du métabolisme par l'hypothermie, une durée courte de conservation, la suppression de l'œdème cellulaire grâce aux agents imperméants (polyéthylène glycol...) et, lors de la reperfusion, la stimulation du métabolisme énergétique grâce à des facteurs de croissance.

Les solutions de préservation varient beaucoup entre les centres de transplantation et font toujours l'objet de modifications, concernant notamment la composition ionique optimale et l'utilisation de nouveaux agents pharmacologiques. Un consensus s'oriente vers des solutions à potassium minimal en raison de l'effet délétère du potassium sur la fonction endothéliale. Parmi les agents pharmacologiques proposés dans la littérature récente et permettant de limiter l'altération de l'organe, on peut citer de nombreux donneurs de l'oxyde nitrique (NO), les inhibiteurs des MAPK (*Mitogen Activated Protein Kinase*), de nouveaux anti-oxydants et des composés pléiotropes tels que l'érythropoïétine (EPO) ou les statines. Le conditionnement (température, oxygénation, perfusion courte ou continue) des greffons pendant la période d'arrêt (en particulier cardiaques et pulmonaires) est toujours l'objet de controverses.

La conservation en perfusion continue hypothermique (4°C) ou normothermique (37°C) représente une stratégie de protection permettant de maintenir l'apport en oxygène au niveau de l'organe. La perfusion normothermique permet par ailleurs d'éviter les problèmes de l'ischémie froide. Cette technique de perfusion permet en outre d'éliminer les produits toxiques accumulés dans le tissu, de contrôler le pH cellulaire, de mesurer des marqueurs de la viabilité du greffon, de délivrer des agents cytoprotecteurs et d'améliorer la viabilité des organes sub-optimaux par un « postconditionnement ». Dans des modèles d'ischémie chaude, il a été montré que la conservation par perfusion normothermique permettait d'améliorer significativement la survie de la greffe.

Pour améliorer la tolérance de l'organe à l'ischémie/reperfusion, différentes stratégies de prétraitement du donneur ont été étudiées. Des résultats bénéfiques sur la survie de la greffe ont été obtenus par la protection directe du donneur à l'aide d'agents pharmacologiques susceptibles d'inhiber des molécules délétères ou de renforcer des voies métaboliques protectrices mais la spécificité du traitement reste réduite et leur coût élevé. Bien que la thérapie

génique (anti-apoptotique ou anti-oxydante) soit séduisante et efficace, au moins chez le petit animal, de nombreux problèmes accompagnent encore cette stratégie thérapeutique.

Des stratégies chirurgicales, comme le préconditionnement ischémique<sup>26</sup>, peuvent être envisagées dans des applications cliniques de routine. De courtes périodes de reperfusion alternant avec la réocclusion appliquées au début de la reperfusion (postconditionnement) sont également capables d'induire un effet protecteur par l'intermédiaire de l'inhibition de l'ouverture du pore de transition de perméabilité membranaire mitochondriale.

La littérature récente met en évidence la possibilité d'agir au niveau des greffons pendant la période d'I/R, non seulement pour limiter l'altération de la fonction de l'organe mais aussi pour réduire son immunogénicité et améliorer la protection contre la réponse immune de l'hôte. Il est à présent clair que l'activation de l'immunité innée joue un rôle clé dans le dommage lié à l'ischémie/reperfusion et participe à la défaillance du greffon, au rejet aigu et au rejet chronique. L'oxydation de protéines non natives (par les espèces réactives de l'oxygène produites au cours de l'I/R) provoque l'activation des récepteurs TLR (*Toll like Receptors*) au niveau des cellules du système immunitaire inné et en particulier des cellules dendritiques, capables d'induire la réponse adaptative allo-immune. Plus généralement, des molécules variées sont susceptibles d'être exposées au cours de l'ischémie/reperfusion et de jouer le rôle d'antigènes, altérant ainsi l'acceptation du greffon. Ceci implique de nouveaux développements en matière de protection contre l'I/R visant à réduire l'immunogénicité du greffon.

## Transplantation rénale : élargir le pool des donneurs

Malgré une augmentation significative du nombre de prélèvements destinés à la transplantation rénale réalisée en France au cours des dernières années, il existe aujourd'hui, du fait de l'épidémiologie de la maladie rénale chronique, une situation préoccupante de pénurie de greffons.

En France, 2 911 transplantations rénales ont été réalisées en 2007, 3 510 nouveaux patients ont été inscrits sur liste d'attente durant cette période et 6 491 patients étaient en attente d'une greffe rénale au 1<sup>er</sup> janvier 2008 (données de l'Agence de la biomédecine<sup>27</sup>).

26. Le préconditionnement ischémique consiste en une courte période d'ischémie suivie de reperfusion, protégeant d'une ischémie/reperfusion sévère postérieure.

27. Voir le bilan 2007 des activités de prélèvement et de greffe rénale en France à l'adresse suivante : [http://www.agence-biomedecine.fr/fr/rapport\\_2007](http://www.agence-biomedecine.fr/fr/rapport_2007)

En conséquence, 3,3 patients sont candidats pour 1 greffon utilisable dans l'année. Cette situation épidémiologique implique l'accroissement des sources potentielles de greffons. Plusieurs stratégies se développent dans cette perspective : utilisation de greffons à caractère élargi (en particulier provenant de donneurs dits « marginaux »), développement de la greffe à partir de donneurs vivants, encouragement des prélèvements à cœur arrêté et réalisation de greffes ABO incompatibles.

La pénurie des greffons et l'évolution démographique des donneurs ont conduit à définir la notion de donneurs dits « marginaux », c'est-à-dire provenant principalement de donneurs âgés, décédés de causes cardiovasculaires ou présentant des facteurs de risque cardiovasculaires ou une réduction de débit de filtration glomérulaire. Des critères ont été établis principalement à partir des études de registres américains, permettant la mise en évidence de scores définissant avec précision les greffons de ces donneurs et dont l'utilisation est par définition associée à une survie des greffons inférieure à celle obtenue avec des greffons dits « optimaux ». La survie à long terme des greffons marginaux est inférieure de 5 à 15 % à celle des greffons dits optimaux. Cependant, la survie des patients greffés avec un rein marginal est meilleure que celle des patients sur liste d'attente restant en dialyse avec un gain d'espérance de vie moyen de l'ordre de 5 ans.

Ces greffons constituent aujourd'hui une source précieuse d'organes et l'enjeu à l'avenir est donc la mise en place de stratégies d'optimisation de leur utilisation. Sur la base des facteurs conditionnant la réussite de la greffe récemment identifiés, ces stratégies incluent :

- les méthodes de sélection de ces greffons, sur des critères cliniques voire histologiques ;
- les critères d'attribution et la définition du couple donneur/receveur ;
- les stratégies immunosuppressives ;
- l'évaluation des techniques de préservation.

La greffe réalisée à partir de donneurs vivants, marginale en France jusqu'à la révision des lois de bioéthique (loi n° 2004-800 du 6 août 2004), connaît un développement significatif depuis cette période. Les publications internationales, rapportant l'expérience de transplantation à partir de donneur vivant, montrent toutes que la survie du greffon rénal issu d'un donneur vivant est significativement meilleure que celle du greffon de donneur décédé. Les données du registre nord-américain UNOS (*United Network for Organ Sharing*) de 2007 rapportent 80 % de survie du greffon à cinq ans *versus* 67 % pour le greffon d'origine cadavérique. La survie du patient est également significativement supérieure à celle du transplanté à partir de donneur décédé. La compatibilité HLA n'influence pas de manière significative le résultat de la transplantation à partir de donneur vivant. Bien que l'âge du donneur conditionne la survie du receveur, la survie du greffon de donneur vivant âgé est toujours supérieure à celle du rein d'un donneur

décédé de même âge. Dans le cas de donneurs vivants ABO incompatibles, les résultats de survie à long terme, obtenus au Japon et aux États-Unis, sont comparables à ceux obtenus en cas de couple donneur/receveur ABO compatible. L'utilisation d'un nouvel agent immunosuppresseur ciblant de manière spécifique les populations lymphocytaires B, l'anticorps anti-CD20, a conduit à la réalisation de transplantations ABO incompatibles sans splénectomie, avec des succès tout à fait comparables aux greffes avec splénectomie systématique.

Les stratégies d'évaluation du donneur et du receveur sont particulièrement importantes pour mieux définir les indications de la transplantation à partir de donneur vivant.

De nombreux pays européens et les États-Unis développent depuis le début des années 1990 des programmes de transplantation à partir de donneurs à cœur arrêté. Ces greffons proviennent de donneurs prélevés selon les critères établis par la classification internationale dite de Maastricht.

### **Classification des donneurs à cœur arrêté (d'après Van Raemdonck et coll., 2004)**

Catégories	Critères
I	Arrêt cardiaque constaté en dehors de tout secours médical ou paramédical et s'avérant immédiatement ou secondairement irréversible
II	Arrêt cardiaque survenu en présence de secours, dont la réanimation après massage cardiaque et respiration artificielle s'avère vouée à l'échec
III	Arrêt cardiaque irréversible survenu après arrêt programmé des soins
IV	Arrêt cardiaque irréversible survenant au cours d'un état de mort encéphalique primitive, pendant sa prise en charge en réanimation
V	Équivalent du groupe II, mais survenant en intra-hospitalier

En France, seuls les donneurs des catégories I, II et IV peuvent être prélevés.

L'incidence de la non-fonction primaire du greffon est de l'ordre de 4 à 6 % pour les donneurs à cœur arrêté et s'avère désormais comparable à celle observée pour les donneurs à cœur battant. Toutes les publications font état de taux de survie des greffons à un, cinq et dix ans identiques et de fonctions des greffons comparables, que le donneur décédé soit en mort encéphalique ou à cœur arrêté. Les bons résultats s'expliquent par une meilleure sélection des donneurs et des receveurs, le respect des délais d'ischémie chaude et froide et l'apparition d'innovations thérapeutiques importantes dans la prise en charge du donneur et de ses organes. La sélection des donneurs est une étape capitale pour le succès de la greffe à partir d'un donneur à cœur arrêté et les facteurs de risque pour le receveur sont maintenant bien identifiés, tels que la présence de lésions de glomérulosclérose et de fibrose, ou d'antécédents



cardiovasculaires. Les innovations thérapeutiques incluent la circulation extracorporelle au niveau de la prise en charge du donneur et, pour la conservation du greffon, les machines à perfuser qui permettent désormais de réduire significativement le taux de retard de fonction du greffon. Un programme pilote de prélèvement sur « donneur à cœur arrêté » a été récemment mis en place en France.

Le prélèvement sur cœur arrêté représente une source considérable de greffons supplémentaires avec des résultats globaux satisfaisants dans la mesure où l'infrastructure technique et logistique est optimale.

## **Transplantation hépatique : donneurs marginaux et approches alternatives**

La principale limite de la transplantation hépatique en France comme dans les autres pays occidentaux est la différence constante entre le nombre de donneurs d'organes et le nombre de patients qui pourraient en tirer un bénéfice. En raison de ce déficit, il est communément admis que la transplantation ne doit être proposée qu'aux patients qui ont la probabilité la plus élevée d'en tirer un bénéfice. En pratique, l'indication de transplantation est discutable si l'espérance de vie après la transplantation est inférieure à 50 % à 1 an. Malgré cette sélection, le nombre de receveurs potentiels reste supérieur au nombre de donneurs.

En France, environ 1 000 transplantations hépatiques sont réalisées chaque année (1 061 en 2007). Mille deux cent à 1 300 nouveaux candidats sont inscrits en liste d'attente chaque année (1 348 nouveaux inscrits en 2007 et 575 restant inscrits au début 2008). Le taux de décès des patients en liste d'attente est aux alentours de 10 % par an.

Le manque de donneurs, tout comme les bons résultats de la transplantation, ont conduit à élargir progressivement les critères de sélection des donneurs et à utiliser les greffons de donneurs dits « marginaux ». La transplantation hépatique à partir de donneurs à cœur arrêté<sup>28</sup> ou de donneurs vivants tend également à se développer. Enfin, indépendamment du donneur lui-même, des techniques de transplantation alternatives aboutissent à des greffons marginaux.

Un donneur « idéal » est un donneur en état de mort encéphalique, âgé de moins de 40 ans, dont la cause de la mort est traumatique, dont l'hémodynamique est stable au moment du prélèvement, qui n'a pas de stéatose ni

---

28. Bien qu'autorisé par décret, le prélèvement à cœur arrêté n'est pas encore pratiqué dans le cadre de la greffe hépatique en France.

d'autre lésion parenchymateuse chronique sous-jacente et qui n'a pas de maladie transmissible. Pour un donneur « idéal », le risque de non-fonctionnement ou de dysfonctionnement du greffon conduisant au décès ou à la retransplantation est inférieur à 5 %. Par définition, un donneur marginal est un donneur dont une ou plusieurs des caractéristiques diffèrent de celles d'un donneur idéal. Certains facteurs qui n'affectent pas le risque de dysfonction du greffon, tels que les maladies transmissibles, doivent être pris en compte dans la définition du donneur marginal.

La mort cérébrale a de nombreuses conséquences circulatoires et métaboliques qui peuvent avoir un impact sur le fonctionnement ultérieur du greffon hépatique. Toutefois, à condition que le parenchyme hépatique soit normal, le foie est un des organes les plus résistants à ces désordres.

Les greffons marginaux provenant de donneurs âgés ou ayant une stéatose sont plus sensibles à l'ischémie froide. La stéatose macrovésiculaire, affection tout à fait bénigne et réversible dans la population non transplantée, constitue un risque majeur de dysfonctionnement précoce en cas de transplantation. La capacité de régénération et la tolérance aux lésions d'ischémie/reperfusion sont nettement altérées par rapport aux greffons non stéatosiques. Une stéatose supérieure à 60 % représente habituellement une contre-indication à la transplantation. Quel que soit le degré de stéatose, l'existence de lésions associées (infiltrats inflammatoires marqués, fibrose même discrète) constitue également une contre-indication. Lorsque la reprise fonctionnelle du greffon est satisfaisante, la stéatose régresse. Il n'est pas clairement démontré qu'elle a un impact significatif sur la survie du greffon à long terme, indépendamment des autres facteurs. On peut supposer que des mesures spécifiques et combinées (réduction de l'ischémie froide, solution de conservation adaptée, réduction de volume du foie) pourraient permettre d'étendre l'utilisation des greffons stéatosiques. Le potentiel en termes d'augmentation du nombre des donneurs est important.

Au cours des dernières années, l'âge moyen des donneurs a augmenté en France comme dans la plupart des autres pays d'Europe et aux États-Unis. Il n'existe pas de limite formelle concernant l'âge du donneur en transplantation hépatique. Toutefois, les capacités de régénération du foie diminuent avec l'âge. L'âge avancé constitue un facteur de risque indépendant de défaillance du greffon et le risque correspondant est continu. L'âge du donneur a également un impact particulièrement marqué chez les receveurs ayant une infection par le virus de l'hépatite C (VHC). La récurrence de l'hépatite C est plus sévère et la fibrose est plus rapidement évolutive lorsque le donneur est âgé. La majoration du risque existe dès que l'âge du donneur excède 40 ans. En dehors du cas particulier de l'hépatite C, il n'a pas été identifié de population à haut risque vis-à-vis des donneurs âgés.

Une infection bactérienne documentée chez le donneur (y compris une infection du système nerveux central) ne constitue pas une contre-indication

à la transplantation hépatique. En revanche, l'infection du donneur par le VIH représente actuellement une contre-indication à la transplantation. L'utilisation de donneurs ayant une hépatite B « guérie », anticorps (Ac) anti-HBc positifs ± Ac anti-HBs positifs, est également possible dans le cadre d'un protocole dérogatoire en France. Par ailleurs, en règle générale, l'existence d'un cancer ou un antécédent de cancer chez le donneur est une contre-indication à la transplantation.

La technique du foie partagé est fortement encouragée dans la mesure où elle permet de transplanter deux receveurs avec un seul donneur. Ainsi, un greffon hépatique prélevé chez un donneur en état de mort encéphalique peut être partagé en 2 héli-greffons (droit et gauche) autonomes. Toutefois, seuls les greffons de qualité optimale peuvent être partagés. Les greffons pour lesquels il existe déjà un facteur de risque (stéatose, âge avancé...) ne sont pas partagés car le risque cumulé devient trop élevé. Les receveurs d'un greffon gauche sont essentiellement des enfants. Bien que la liste d'attente pédiatrique soit limitée comparée à celle des adultes, il est rare qu'un adulte puisse être transplanté avec un greffon gauche. Ce type d'intervention nécessite une excellente coordination et une proximité géographique entre une équipe de transplantation pédiatrique et une équipe de transplantation adulte. Ces conditions ne sont remplies que dans quelques régions de France. Il est également rare que deux transplantations puissent être réalisées dans un seul centre, en même temps, à partir d'un seul greffon partagé.

La transplantation d'un greffon partiel prélevé chez un donneur vivant est techniquement possible. Chez l'enfant, on utilise habituellement un greffon gauche prélevé chez un des parents. Les résultats de la transplantation par donneur vivant chez l'enfant sont équivalents ou un peu supérieurs à ceux de la transplantation par donneur en état de mort cérébrale. Chez l'adulte, on doit habituellement utiliser un greffon droit pesant au moins 0,08 à 0,1 % du poids du corps pour obtenir une masse suffisante de parenchyme hépatique. Chez le donneur, on laisse en place le foie gauche qui doit représenter au moins 35 % du volume du foie natif pour éviter une insuffisance hépatique post-opératoire. La technique du donneur vivant chez l'adulte bien qu'attractive est limitée par plusieurs éléments dont un cadre légal rigoureux. De plus, le donneur doit avoir un foie normal et aucune pathologie sous-jacente. De ce fait, seule une minorité des candidats à la transplantation peut bénéficier d'un donneur vivant. Même si le donneur n'a aucun risque chirurgical objectif, le risque opératoire d'une hépatectomie droite n'est pas nul. Il s'agit d'une intervention majeure avec une morbidité de l'ordre de 20-25 % et un risque de mortalité de l'ordre de 0,2 %. Ce risque doit être considéré en tenant compte du fait que le donneur, par définition en bonne santé, ne justifie pas d'une intervention chirurgicale lourde pour lui-même.

La transplantation à partir de donneurs à cœur arrêté est une autre alternative attractive pour augmenter le nombre de donneurs. Elle consiste à prélever

un greffon chez un sujet ayant eu un arrêt cardiaque non récupéré. La période d'ischémie « chaude » doit être aussi brève que possible de même que la période d'ischémie froide. Il est fortement recommandé de réaliser une biopsie systématique afin de s'assurer de l'absence de lésion hépatique sous-jacente.

Pratiquée en routine avec d'excellents résultats dans les pays asiatiques industrialisés, tant pour la survie du receveur que pour la sécurité du donneur, la transplantation d'adultes à partir de donneurs vivants stagne ou régresse en Europe et aux États-Unis. L'expansion de cette technique dépend principalement d'éléments logistiques avec la sensibilisation et la formation des unités de soins ambulatoires d'urgence, la création de réseaux de prise en charge et la formation d'équipes de prélèvement. L'expansion de la transplantation à partir de donneurs à cœur arrêté pourrait apporter 10 à 20 % de greffons supplémentaires.

Au final, il serait possible de répondre à la question de l'attribution optimale des donneurs marginaux à certaines catégories de receveurs grâce à un score de risque des donneurs, des bases de données suffisamment larges et des techniques de modélisation statistique.

## **Transplantation cardiaque : nouvelles pistes pour optimiser le pool des donneurs**

On dénombre plus de 2 000 greffes cardiaques réalisées en France ces huit dernières années et une file d'attente chaque année d'environ 700 patients. En 2007, 366 transplantations ont été réalisées. La médiane de survie du receveur est de 10,8 ans après la greffe et de 13 ans passée la première année post-transplantation. On estime aujourd'hui que la survie à 10 ans des patients transplantés actuellement avoisinera les 70 %. Les progrès de la cardiologie permettent à une population de plus en plus nombreuse de survivre et de prétendre à la transplantation soit directement, soit au décours d'une assistance circulatoire mécanique. Malgré ces succès, on dénombre chaque année deux fois plus de patients en attente de greffe cardiaque que de patients réellement transplantés et 10 % d'entre eux décèderont sans avoir eu accès à la greffe. L'optimisation de l'accès à la greffe cardiaque passe par une optimisation du pool de donneurs, de la sélection des receveurs et de la protection de l'organe à prélever.

Les données expérimentales ont montré que la brutalité de la mort encéphalique affectait la physiologie du myocarde notamment en raison de l'orage catécholergique. Contrairement aux autres organes, le processus même de la mort encéphalique est donc susceptible d'induire une modification du myocarde et de perturber l'évaluation et la sélection du donneur. La principale

altération est une diminution de la contractilité ventriculaire gauche, l'appréciation de sa réversibilité est la clé du bon choix. Il est ainsi essentiel de prendre en compte ces modifications potentielles avant de conclure sur la compatibilité ou non du cœur du donneur avec le projet de transplantation. Des paramètres hémodynamiques acceptables ont été définis et une stratégie de réanimation chez ces donneurs a été standardisée. Des recommandations ont été clairement exprimées par la Conférence de consensus de Crystal City en 2001 avec recours aux hormones thyroïdiennes, à la vasopressine, la méthyl prednisolone et l'insuline. Plus récemment, le blocage bêta-adrénérique chez le donneur a été proposé par certains auteurs sur la base de travaux expérimentaux et cliniques.

Pour augmenter la disponibilité des greffons cardiaques, les critères initiaux définissant des greffons idéaux ont été revus et élargis. Ces critères portent sur : l'âge et le poids du donneur, la tolérance d'une hypertrophie ventriculaire gauche modérée, l'acceptation de coronaropathies modérées et la tolérance de lésions du greffon pouvant être accessibles à une réparation *ex vivo* avant transplantation.

L'âge des donneurs a nettement augmenté ces 15 dernières années. L'âge moyen est actuellement au-dessus de 30 ans, et 8 % des donneurs ont plus de 50 ans. C'est en Europe que la proportion de donneurs âgés est la plus forte : 19,6 % des donneurs ont dépassé 50 ans contre seulement 10 % aux États-Unis. Le jeune âge du donneur est un critère bien établi de succès au long cours de la transplantation cardiaque. Cependant, une transplantation cardiaque même avec un donneur âgé est préférable à l'absence de greffe et il faut prendre en compte des facteurs associés pour apprécier correctement le pronostic. De même, avec les protocoles thérapeutiques actuels, l'âge ne semble pas influencer la maladie vasculaire du greffon. Toutefois, les résultats restent controversés quant à la survie à long terme des patients greffés avec des cœurs de donneurs de plus de 50 ans.

Les données récentes du Registre international de la Société de transplantation cardiaque et pulmonaire (2008) confirment la valeur pronostique de la durée d'ischémie sur la survie à 5 et 10 ans. Le poids du receveur, le poids du donneur et le ratio de poids donneur/receveur constituent également des facteurs conditionnant le pronostic de la greffe cardiaque. Il est important d'intégrer les données de durée d'ischémie, de poids du donneur et du receveur dans l'ensemble des facteurs influençant la qualité du greffon y compris l'âge du donneur.

L'évaluation de la dysfonction myocardique du donneur, fondée sur l'échographie initiale et l'évaluation de la fraction d'éjection ventriculaire gauche, reste difficile. Il semble que 25 à 50 % des cœurs refusés au prélèvement le soient pour une échocardiographie jugée insatisfaisante. La fraction d'éjection ventriculaire gauche est un paramètre variable dans le temps et modifiable par les conditions de réanimation du donneur.

Différentes pistes sont explorées pour optimiser le pool des donneurs cardiaques mais leur application reste délicate. Le postconditionnement (intervention avant remise en charge finale du greffon) améliore les fonctions du cœur de rat ischémié en hypothermie pendant 4 heures et cardioplégié. Son application chez le patient n'a pour l'instant concerné que la protection contre l'infarctus et des résultats en transplantation sont attendus. Les machines de perfusion font actuellement l'objet de recherches actives en transplantation cardiaque. Elles devraient permettre de réduire la durée de l'ischémie des greffons et d'assurer leur évaluation et ainsi rendre accessibles au prélèvement un certain nombre d'organes jusqu'alors rejetés.

## **Transplantation pulmonaire : comment remédier à la pénurie de greffons**

Environ 200 transplantations pulmonaires sont réalisées chaque année en France. En dépit d'améliorations récentes, la survie après transplantation pulmonaire reste décevante, de l'ordre de 50 % à 5 ans. Ces éléments sont à considérer lors de la réflexion sur la gestion de la pénurie de greffons pulmonaires. Comme dans toutes les transplantations d'organes solides, le nombre de patients inscrits sur liste d'attente dépasse largement le nombre de greffons disponibles, aboutissant à des temps d'attente et à une mortalité sur liste importants. Si 223 transplantations pulmonaires ont été réalisées en 2007 (154 bipulmonaires, 49 monopulmonaires et 20 cardiopulmonaires), on estime à 300 ou 400 le nombre de greffons nécessaires par an.

Plusieurs voies ont été ou sont en cours d'exploration pour remédier à cette pénurie de greffons pulmonaires. En transplantation pulmonaire, les sources potentielles de greffons sont les donneurs en état de mort encéphalique, les donneurs vivants et les donneurs à cœur arrêté.

Les donneurs en état de mort encéphalique représentent la très grande majorité des transplantations pulmonaires pratiquées dans le monde, et même l'unique source de greffons pulmonaires en France. Un important travail a été réalisé en France concernant le recensement du nombre de sujets en état de mort encéphalique qui a doublé entre 1996 et 2007 pour atteindre 24,7 donneurs prélevés par million d'habitants, plaçant la France au deuxième rang des pays européens. Parmi les patients en état de mort encéphalique, peu sont prélevés d'au moins un poumon ; la cause du décès (traumatisme notamment) et les conséquences de la réanimation (infections nosocomiales) entraînent fréquemment une altération profonde de la fonction pulmonaire incompatible avec le prélèvement pulmonaire. L'acceptation d'un greffon en vue d'une transplantation est une décision difficile fondée sur des éléments souvent peu objectifs. Des critères de sélection ont été définis de manière parfaitement empirique dès le début de l'activité de transplantation.

L'élargissement de ces critères de sélection en 2003 a permis d'augmenter sensiblement (de 9,8 % en 2000 à 15,8 % en 2006) le nombre de patients prélevés d'au moins un poumon parmi les sujets en état de mort encéphalique. Bien que la survie après transplantation pulmonaire ne semble pas pâtir de cette politique, les études analysant l'impact de l'élargissement des critères de sélection sur la survie des patients sont pour la plupart de petite taille et de méthodologie hasardeuse. Un effort particulier devrait être réalisé pour déterminer l'impact des caractéristiques du greffon sur le devenir des receveurs afin de guider les transplantateurs pulmonaires au moment d'accepter un greffon pulmonaire. Le développement d'un score permettrait de quantifier de façon objective la « qualité » d'un greffon.

La greffe à partir de donneurs vivants représente une activité marginale en transplantation pulmonaire (3 transplantations aux États-Unis et aucune en France en 2006). Les problèmes éthiques posés par cette intervention (morbidité importante pour le donneur) et l'absence de supériorité de la transplantation pulmonaire à partir de donneur vivant en termes de survie du receveur ou de fréquence des rejets aigus et chroniques, contrairement à ce qui est rapporté dans d'autres organes, expliquent l'abandon progressif de cette intervention.

La transplantation pulmonaire à partir de donneurs à cœur arrêté est en plein essor aussi bien en transplantation pulmonaire que pour d'autres organes. La faisabilité de cette technique en transplantation pulmonaire a été initialement démontrée dans différents modèles animaux qui ont mis en évidence la bonne tolérance de l'ischémie chaude par le poumon. Cette méthode a été transposée chez l'homme au début des années 2000. En Espagne, les résultats de transplantations pulmonaires réalisées à partir de donneurs à cœur arrêté ont été publiés : chez 17 patients transplantés de 2002 à 2007, la survie à 1 et 3 ans ne différait pas significativement de celle observée après transplantation à partir de donneurs en état de mort encéphalique. Ces résultats préliminaires encourageants demandent à être confirmés. En France, cette technique n'est pas autorisée actuellement en transplantation pulmonaire.

Aucune réflexion n'a pour le moment été menée quant à la technique chirurgicale employée. En France, plus de 70 % des transplantations pulmonaires réalisées sont des transplantations bipulmonaires, les pratiques variant très largement d'un centre de transplantation à l'autre. La supériorité de la transplantation bipulmonaire n'est cependant pas démontrée chez tous les patients (patients de plus de 60 ans) ni dans toutes les indications (fibrose pulmonaire). La réalisation systématique de transplantations monopulmonaires chez les patients âgés de plus de 60 ans ou souffrant de fibroses pulmonaires par exemple permettrait d'augmenter sensiblement le nombre de transplantations réalisées à nombre constant de donneurs. De même, une réflexion sur les sous-groupes de patients qui tirent un bénéfice maximal de

la transplantation permettrait un meilleur emploi du nombre limité de greffons pulmonaires disponibles.

## **Complications après transplantation : infections, maladies cardiaques et métaboliques**

La transplantation d'organes reste une intervention source de complications nombreuses. Bien que les progrès aient été considérables, l'immunosuppression utilisée pour prévenir le phénomène du rejet augmente le risque et la sévérité des complications liées à l'intervention chirurgicale.

Les complications précoces incluent les complications chirurgicales (non-fonction ou dysfonction du greffon, complications vasculaires) et les complications infectieuses.

La non-fonction et dysfonction du greffon existent dans toutes les transplantations et se manifestent de façon précoce après la transplantation. La cause peut être due à la qualité du greffon, aux techniques de prélèvement, à la durée d'ischémie froide, à l'existence d'un choc hémodynamique chez le donneur. En transplantation rénale, ces complications sont associées à une moins bonne survie du greffon et dans quelques cas, elles sont non réversibles. En transplantation hépatique, il s'agit le plus souvent d'une dysfonction plutôt que d'une non-fonction et le greffon fonctionne à nouveau après quelques jours. Cependant en cas de longue dysfonction du greffon, le risque infectieux chez le transplanté est très augmenté et donc la morbidité post-opératoire plus élevée. Dans quelques cas, une retransplantation hépatique doit être décidée d'urgence, décision toujours difficile car la mortalité après retransplantation hépatique d'urgence est de 50 %. La non-fonction du greffon est la hantise en greffe cardiaque et en greffe pulmonaire et explique la nécessité d'une ischémie froide très courte pour ces deux organes.

Après transplantation rénale, les complications vasculaires incluent les sténoses, les thromboses et les complications hémorragiques. Après transplantation hépatique, la complication principale est la thrombose de l'artère hépatique, plus fréquente après une greffe de foie partagé (*split*) ou de greffon pédiatrique ainsi que dans le cas d'un don intra-familial. Si le diagnostic est précoce, une réintervention chirurgicale est possible, sinon la retransplantation hépatique est habituellement la règle à court terme. Les autres complications fréquentes sont représentées par les complications biliaires ainsi que les complications hémorragiques et les collections intra-abdominales qui restent encore fréquentes.

Les complications infectieuses représentent les principales complications après transplantation. Elles surviennent essentiellement dans les trois premiers mois post-greffe. Les facteurs favorisant ces complications sont la



condition du patient au moment de la transplantation, la durée de l'opération, les difficultés opératoires, l'absence de reprise de fonction du greffon et l'intensité de l'immunosuppression.

Les infections bactériennes sont extrêmement fréquentes dans les premiers jours post-opératoires, que ce soit sous forme de collections infectées, de septicémie, d'infections urinaires ou d'infections pulmonaires. Les infections fongiques, moins fréquentes, sont souvent associées à la durée de la réanimation et au fonctionnement du greffon. Les principales sont les candidoses et les aspergilloses. Le pronostic des aspergilloses diffuses, autrefois catastrophique, reste grave mais s'est amélioré suite à l'arrivée de nouveaux anti-fongiques.

Les complications virales sont également fréquentes et pour certaines très caractéristiques de la transplantation d'organes. Dans le cas d'infection à cytomégalovirus, l'infection est la conséquence soit d'une primo-infection, soit d'une surinfection ou d'une réactivation post-transplantation. Les primo-infections sont les plus sévères et surviennent dans un contexte où le donneur est séropositif et le receveur séronégatif. Elles peuvent être graves, entraînant une dysfonction du greffon, une pneumopathie, voire une infection généralisée et en conséquence nécessitent absolument un traitement. Elles menacent maintenant rarement le pronostic vital mais peuvent cependant faciliter la survenue de rejet aigu et de rejet chronique.

Les infections à virus Epstein Barr (EBV), fréquentes chez les enfants, sont surtout sévères en cas de primo-infection et peuvent faciliter l'émergence de lymphomes post-transplantation. La prévention de la primo-infection est donc extrêmement importante et la surveillance de l'EBV par PCR (*Polymerase Chain Reaction*) est primordiale. Le traitement des lymphoproliférations peut aller de la simple diminution des immunosuppresseurs associée à un traitement anti-viral à une chimiothérapie en cas de lymphome avéré.

Les infections virales Herpès Simplex 1 et 2 sont rares et exceptionnellement sévères. Les infections Herpès 6, encore mal connues, peuvent être associées à des hépatites en post-transplantation et favoriser l'émergence de rejets. Les primo-infections Herpès 8 ou les réactivations Herpès 8 peuvent être associées à l'émergence de sarcome de Kaposi et sont rares.

L'impact des virus de l'hépatite B (VHB) et de l'hépatite C (VHC), est le plus important en transplantation. Chez les patients transplantés pour hépatopathie chronique due au VHB, l'infection est due essentiellement à la récurrence du virus. Ces dernières années, l'association d'analogues nucléosidiques ou nucléotidiques avec des immunoglobulines anti-HBs a permis de réduire la récurrence virale B à moins de 10 %. L'hépatite B acquise post-transplantation hépatique reste possible lorsque le greffon provient d'un donneur ayant eu une hépatite B. Dans ce contexte, une prophylaxie peut être nécessaire.

418 Après transplantation rénale, cardiaque ou pulmonaire, des réactivations du

virus de l'hépatite B chez le receveur sont également possibles. L'immunosuppression post-transplantation peut provoquer la réactivation du virus. À l'opposé de la récurrence virale, l'acquisition d'une hépatite B péri-transplantation est heureusement très rare. Après transplantation hépatique, la récurrence virale C est constante lorsque le patient est transplanté pour une cirrhose due au VHC avec présence du virus dans le sang, ce qui est le cas dans 90 % des cas. Des méthodes de prophylaxie de cette récurrence sont actuellement peu efficaces. La récurrence virale va entraîner l'apparition rapide d'une hépatite chronique puis d'une cirrhose (20-25 % de cirrhoses à 5 ans) et pénaliser la survie à long terme des patients transplantés. Les hépatites C acquises post-transplantation sont devenues extrêmement rares. En transplantation rénale, les patients déjà infectés par le VHC peuvent avoir une progression plus importante de leur hépatite chronique C vers la cirrhose.

Le donneur peut transmettre de très nombreuses pathologies infectieuses. Les virus, bactéries ou parasites peuvent en effet être localisés dans les cellules du greffon ou dans les cellules lymphocytaires qui accompagnent le greffon. Les infections virales les plus couramment transmises sont le cytomégalovirus, les virus EBV et Herpes 8 et plus rarement le virus de la rage et les virus des hépatites. Parmi les infections bactériennes, le bacille de la syphilis peut être transmis et parmi les infections parasitaires, l'infection la plus fréquente transmise est la toxoplasmose.

L'un des grands principes pour réduire la morbidité post-transplantation est la prévention des complications infectieuses bactériennes par la préparation du receveur à la transplantation, la réduction des complications chirurgicales, la bonne utilisation des antibiotiques et une modulation adéquate des immunosuppresseurs. Les complications virales quant à elles doivent être prévenues par l'appariement des donneurs/receveurs, notamment pour le cytomégalovirus, l'utilisation d'anti-viraux et également la modulation de l'immunosuppression.

Les complications cardiovasculaires et métaboliques sont davantage liées à l'immunosuppression et plus tardives. Le risque cardiovasculaire global chez les transplantés est augmenté par rapport à la population générale. Ces complications cardiovasculaires apparaissent comme les premières causes de décès sur le long terme après transplantation rénale et hépatique. Tout doit être fait pour évaluer le risque avant la greffe et prévenir ces complications : prévention de la dyslipidémie, du diabète, arrêt du tabac, mesures diététiques, exercices physiques.

La fréquence de l'hypertension artérielle varie de 20 à 50 % en transplantation hépatique et est favorisée par l'utilisation de corticoïdes et des inhibiteurs de la calcineurine. L'hypertension artérielle a un impact en transplantation sur le risque global cardiovasculaire à long terme. Cette complication doit être prévenue et traitée par la modulation ou la modification des immunosuppresseurs et l'utilisation d'anti-hypertenseurs.

Le diabète *de novo* post-transplantation hépatique représente la complication métabolique la plus fréquente. Il existe aussi des aggravations de diabètes préexistants à la transplantation. Les facteurs de risque sont l'utilisation des corticoïdes, d'inhibiteurs de la calcineurine (particulièrement le tacrolimus), la présence du virus VHC, l'obésité et toutes les affections dysmétaboliques. Ces complications peuvent avoir des conséquences sur la survie du greffon (notamment pour le greffon rénal par le biais d'atteintes artérielles) et sur la survie du patient. La prévention repose sur une immunosuppression sans ou avec des doses faibles de corticoïdes, la diminution ou l'arrêt précoce des corticoïdes, la modification de l'immunosuppression. Le traitement du diabète doit toujours être entrepris pour obtenir un équilibre de la glycémie et des résultats adéquats sur le long terme.

La dyslipidémie est un problème fréquent. Les facteurs de risque sont le type de transplantation, la présence d'une obésité, les habitudes diététiques, les facteurs génétiques, l'utilisation de fortes doses de corticoïdes ou d'inhibiteurs de mTOR. La prévention et le traitement reposent sur des modifications diététiques essentiellement.

L'obésité est une complication qui devient fréquente. Dans les suites de la transplantation hépatique, on note une prise de poids et une augmentation de l'indice de masse corporelle avec 14 % des patients transplantés qui ont un indice supérieur à 30.

## **Complications après transplantation : néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine**

Les immunosuppresseurs du type inhibiteurs de la calcineurine, outre leur puissance immunosuppressive, ont en commun un effet néphrotoxique qui a des conséquences délétères à long terme quel que soit le type d'organe transplanté.

La néphrotoxicité peut être aiguë, fonctionnelle et régressant avec la réduction des inhibiteurs de la calcineurine ou chronique et irréversible. Elle se traduit sur le plan clinique par une insuffisance rénale aiguë ou chronique. Le diagnostic doit être étayé d'une part, par les dosages sanguins des inhibiteurs de la calcineurine (bien que la corrélation entre toxicité et surdosage soit relativement faible surtout à l'échelon individuel) et d'autre part, par l'examen des lésions histologiques induites dont certaines sont très évocatrices (vacuolisation isométrique tubulaire, hyalinisation artériolaire) tandis que d'autres sont plutôt séquellaires (fibrose interstitielle, atrophie tubulaire). La pratique des biopsies rénales de dépistage a permis de préciser l'histoire naturelle des lésions de néphrotoxicité.

La physiopathologie de la néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine est encore mal connue. Elle résulte principalement d'une vasoconstriction et de ses conséquences à court et long terme. La vasoconstriction est elle-même liée à une production augmentée d'endothéline I, une augmentation du tonus sympathique, une modification du rapport prostaglandines/thromboxane en faveur de la vasoconstriction, une activation du système rénine-angiotensine et du stress oxydant. Il en résulte une synthèse par les cellules tubulaires, de molécules profibrosantes comme le TGF- $\beta$  et une fibrose interstitielle. Les cellules tubulaires sont enfin le siège d'une induction d'apoptose. Les cellules endothéliales constituent également une cible des inhibiteurs de la calcineurine.

À ces mécanismes connus depuis longtemps viennent s'ajouter des mécanismes émergents qui pourraient être impliqués dans la néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine. Le premier d'entre eux concerne la transition épithélio-mésenchymateuse au cours de laquelle les cellules tubulaires acquièrent un phénotype de myofibroblaste. Après transplantation, on retrouve sur les biopsies de dépistage effectuées 3 mois après la transplantation ces modifications phénotypiques au niveau des cellules tubulaires. Ce phénomène, induit par les inhibiteurs de la calcineurine, peut également être engendré par l'ischémie/reperfusion.

Un autre mécanisme potentiel repose sur la démonstration (*in vitro* et *in vivo*) d'une induction par les inhibiteurs de la calcineurine du phénomène de stress du réticulum endoplasmique. Cet effet a été mis en évidence dans les cellules tubulaires rénales chez l'animal et chez l'homme. Le stress du réticulum endoplasmique pourrait être impliqué dans le mécanisme de transition épithélio-mésenchymateuse des cellules tubulaires.

Enfin, il existe des arguments expérimentaux en faveur de l'induction par les inhibiteurs de la calcineurine de lésions de transition, cette fois-ci non plus épithélio-mésenchymateuses, mais endothélio-mésenchymateuses.

Seule une meilleure connaissance des mécanismes de néphrotoxicité engendrés par les inhibiteurs de la calcineurine permettra une amélioration de la prise en charge de cet effet secondaire chez les patients transplantés.

## **Complications après transplantation : augmentation du risque de cancer**

Les cancers représentent une des principales complications tardives post-transplantation impactant sur la qualité de vie des patients transplantés et sur leur survie. Toutes les données des registres nationaux et internationaux en témoignent. La base de données française Cristal de 47 000 patients greffés (tous organes confondus) identifie 7 % de cette population comme ayant eu

au moins un cancer d'organe solide (peau exclue). Le registre de la Société internationale de transplantation cardiopulmonaire dénombre 26 % de cancers (dont la peau) chez les transplantés thoraciques 8 ans après leur transplantation.

La distribution des cancers pour les différentes transplantations d'organe est relativement similaire même si l'on distingue des nuances liées à l'âge de la population transplantée (lymphome chez les enfants) ou à son exposition aux facteurs de risque de cancérogenèse (par exemple tabac chez les transplantés thoraciques). Un des premiers facteurs prédisposant les patients transplantés au développement de néoplasies est la pathologie préexistante ayant conduit à la greffe : cancer rénal en transplantation rénale et carcinome hépatocellulaire associé aux virus des hépatites B et C en transplantation hépatique. Ces facteurs de risque de développement de cancer en post-greffe incluent aussi l'exposition aux UV, les prédispositions génétiques et les infections virales.

Pour la plupart des cancers chez les patients transplantés, la survenue est également favorisée par le traitement immunosuppresseur indispensable à la réalisation de la greffe. La relation entre cancer et immunosuppression a fait l'objet de nombreuses publications et modélisations. L'immunosuppression actuelle repose sur l'association d'anticalcineurines, d'inhibiteurs des bases puriques et de corticoïdes. L'induction immunosuppressive qui accompagne la plupart des transplantations d'organes aujourd'hui en Europe et notamment celle qui fait appel aux anticorps polyclonaux a également été suspectée d'induire une majoration du risque de complications hématologiques au long cours. Certains immunosuppresseurs (par exemple azathioprine) sont plus que d'autres susceptibles d'induire une mutagenèse cellulaire puis un cancer.

Les cancers cutanés et les lymphomes post-transplantation (PTLD pour *PostTransplant Lymphoproliferative Disorder*) sont les plus fréquemment rencontrés chez les patients transplantés. Les cancers cutanés, notamment les carcinomes spinocellulaires, sont les cancers les plus fréquents chez les greffés d'organe solide, avec une augmentation de l'incidence à distance de la transplantation et à terme plus de la moitié des patients greffés sont concernés. Les carcinomes spinocellulaires chez les patients greffés sont plus agressifs que chez les sujets non-immunodéprimés et se compliquent de récurrences locales (12 % des cas) et de métastases (8 % des cas). Le délai d'apparition dépend de l'âge au moment de la transplantation, du type de peau, de l'exposition au soleil et de l'immunosuppression. Ce délai est en moyenne de 7-8 ans pour des patients greffés à l'âge de 40 ans. Si l'on considère la totalité des tumeurs cutanées, 40 % des patients font de nouvelles tumeurs dans la première année après le diagnostic et 67 % dans les deux ans. Les lésions multiples ou récidivantes sont liées à une immunodépression profonde ; la réduction du traitement immunosuppresseur peut limiter ces lésions.

Plusieurs facteurs sont associés à l'apparition de lymphomes chez les transplantés : le jeune âge, une induction immunosuppressive par des anticorps anti-lymphocytes, le statut sérologique pour le virus EBV et le statut HLA. La signification pronostique d'un lymphome est un risque majeur de décès. La survie à 5 ans des transplantés rénaux qui est de 80 %, n'est plus que de 65 % chez les transplantés rénaux atteints de lymphome.

### Comparaison des taux des principaux cancers ajustés sur l'âge des patients transplantés rénaux *versus* la population américaine non greffée (d'après Kasiske et coll., 2004)

Localisation	Taux de cancer chez l'homme <sup>1</sup>				Taux de cancer chez la femme <sup>1</sup>			
	Pop. NT <sup>2</sup>	Années post-transplantation			Pop. NT <sup>2</sup>	Années post-transplantation		
		1	2	3		1	2	3
<b>Peau</b>								
Peau (non mélanome)	24,0	2 017,1	2 333,3	2 160,2	14,3	851,6	1 306,8	1 320,5
Mélanome	19,0	60,4	77,5	131,3	12,1	99,9	58,4	63,5
<b>Lymphomes</b>								
Non hodgkiniens	22,0	882,0	345,1	150,7	15,7	667,5	337,5	456,7
Hodgkiniens	3,2	37,9	12,4	98,6	2,5	11,5	0,0	93,5

<sup>1</sup> Taux pour 100 000 personnes-années dans la population américaine et pour les transplantés. Tous les taux sont standardisés selon les classes d'âge sur la population américaine recensée en 2000 ; <sup>2</sup> Population américaine non transplantée

Pour diminuer le risque de cancer, les équipes de transplantation ont proposé différentes stratégies de minimisation des traitements par immunosuppresseurs et le recours à de nouvelles classes thérapeutiques. Issues de la famille des antagonistes de la protéine mTOR, les nouvelles molécules éverolimus et sirolimus sont dotées d'une activité anti-tumorale *in vitro* et *in vivo*. Cet effet s'exercerait de manière directe (anti-proliférant) et indirecte (anti-angiogénique). Leur développement clinique est en cours et a déjà débouché sur des indications spécifiques d'utilisation en cancérologie.

D'autres classes thérapeutiques immunosuppressives spécifiques de la relation hôte-greffon et donc moins susceptibles d'induire des dérégulations cellulaires sont actuellement en développement.

Outre ces perspectives pharmacologiques, d'autres pistes doivent être développées pour améliorer la survie et la qualité de vie des patients transplantés. Elles concernent l'identification plus performante des facteurs de risque ou des facteurs de prédisposition génétique, la constitution de registres exhaustifs spécifiquement dédiés à ce champ pathologique qu'est le cancer avec un dépistage pré-transplantation et un suivi ciblé post-transplantation. Enfin,

l'éducation des patients et la formation des équipes de transplantation sont des objectifs dont les retombées sont primordiales.

## **Transplantation chez l'enfant : principalement hépatique et rénale**

En France, 71 greffes hépatiques pédiatriques ont été réalisées en 2007. Quatre vingt nouveaux patients ont été inscrits sur liste d'attente durant cette période et 39 jeunes patients étaient en attente d'une greffe hépatique au 1<sup>er</sup> janvier 2008 (données de l'Agence de la biomédecine<sup>29</sup>). Le contexte global de la greffe hépatique pédiatrique en 2007 est celui d'une stabilisation de l'activité d'inscription et de greffe depuis deux ans et d'une pénurie de greffons, avec des besoins qui restent encore supérieurs aux possibilités de greffe malgré l'amélioration du prélèvement ces trois dernières années.

Les indications de transplantation hépatique chez l'enfant sont les maladies cholestatiques chroniques le plus souvent de début néonatal et évoluant vers la cirrhose biliaire. Elles entraînent rapidement un retard de croissance staturo-pondérale. L'atrésie des voies biliaires représente à elle seule plus de 50 % des indications. Les maladies à l'origine des indications de transplantation chez l'enfant (réalisée le plus souvent avant l'âge de 5 ans) exposent peu à un risque de récurrence sur le greffon.

Les résultats de la greffe hépatique réalisée en situation d'incompatibilité de groupe sanguin donneur-receveur apparaissent satisfaisants lorsque le receveur est âgé de moins de 1 an. Cependant, l'utilisation de greffons de donneurs âgés de moins de 1 an expose à un risque accru de thrombose artérielle et de perte du greffon. Une diminution de la survie est également rapportée pour les greffons de donneurs âgés de plus de 50 ans. La greffe du foie entier est la technique la plus simple mais nécessite une adéquation de taille entre greffon et receveur et ne représente que 15 à 20 % du nombre total de greffes hépatiques pédiatriques depuis 2000. Les techniques de réduction du foie et de greffon partagé permettent de réduire les disparités de poids donneur/receveur. Enfin, le prélèvement sur donneur vivant du lobe gauche du foie peut être réalisé chez l'un des deux parents, ce qui permet de programmer l'intervention chez un enfant encore en bonne condition générale avec un greffon de très bonne qualité.

Le traitement immunosuppresseur associé, selon les équipes, la ciclosporine, les corticoïdes et le mycophénolate mofétil ou le tacrolimus et les corticoïdes. La tendance actuelle est à l'arrêt précoce des corticoïdes en post-opératoire

voire à leur éviction des schémas d'immunosuppression primaire. Le taux global de rejet chronique du greffon conduisant à une retransplantation hépatique est inférieur à 5 % dans la majorité des cas.

La plupart des équipes rapportent un taux de survie des patients de plus de 70 % à 10 ans. La dysfonction primaire ou secondaire (après thrombose de l'artère hépatique) du greffon et les complications infectieuses représentent les premières causes de décès précoces. Les trois principales circonstances amenant à une retransplantation sont : la dysfonction secondaire du greffon après thrombose vasculaire (> 40 % des cas), la dysfonction primaire du greffon, les complications biliaires post-ischémiques, et le rejet chronique du greffon.

Après transplantation hépatique, un excellent rattrapage statural est généralement observé chez l'enfant durant les 3 premières années suivant la greffe. Des grossesses ont été menées à terme, avec naissance d'enfants normaux après transplantation dans l'enfance. Le développement intellectuel des enfants transplantés est normal dans la majorité des cas. La qualité de vie après transplantation chez l'enfant, mesurée par auto-évaluation, a été peu étudiée mais paraît relativement satisfaisante.

La transplantation rénale est le traitement optimal de l'insuffisance rénale chronique de l'enfant. L'insuffisance rénale terminale touche plus souvent les garçons que les filles (respectivement 60 % et 40 %). Les uropathies obstructives et les hypoplasies et dysplasies rénales représentent 30 % des causes d'insuffisance rénale terminale. Le syndrome néphrotique idiopathique corticorésistant est la troisième cause par ordre de fréquence représentant 12 % des causes d'insuffisance rénale terminale. La survie des enfants transplantés rénaux est bien supérieure à celle des enfants traités par dialyse quel que soit l'âge de la transplantation. La médiane de la demi-vie d'une greffe de rein chez l'enfant étant d'environ 20 ans, une deuxième transplantation sera nécessaire pour la majorité d'entre eux.

En 2007, 76 greffes rénales pédiatriques ont été réalisées en France. Durant cette période, 88 nouveaux patients ont été inscrits sur liste d'attente, et au 1<sup>er</sup> janvier 2008 61 enfants étaient en attente d'une greffe rénale (données de l'Agence de la biomédecine<sup>30</sup>). Parmi ces 76 jeunes patients, 11 ont reçu un greffon de donneur vivant. La proportion d'enfants greffés avec un rein provenant d'un donneur vivant apparenté (le plus souvent un des deux parents) a varié au cours des 5 dernières années entre 7 et 19 %, alors qu'en Amérique du Nord, cette proportion est de 52 %. La survie des greffes à partir de donneur vivant est significativement plus élevée que celle des greffes provenant de donneur décédé avec une différence de 10 % 5 ans après la transplantation. La transplantation « préemptive » à partir de donneur vivant permet d'éviter la période de dialyse ou d'en limiter la durée et ainsi, d'améliorer la qualité de vie et la croissance en taille de l'enfant.

30. [http://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2007/organes/9\\_greffe\\_ped/9\\_1/9\\_synthese.htm](http://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2007/organes/9_greffe_ped/9_1/9_synthese.htm)



Des protocoles de traitements par immunosuppresseurs (dont les traitements par anticorps) sont en cours d'évaluation dans le but de limiter l'utilisation de corticoïdes et de réduire les doses d'anticalcineurines qui ont un effet néphrotoxique et un rôle majeur dans la néphropathie chronique d'allogreffe. L'association du tacrolimus, du mycophénolate mofétil et des corticoïdes est actuellement la plus fréquente. Les effets secondaires des inhibiteurs de mTOR (hypercholestérolémie, pneumonie, anémie, lymphocèle, retard de cicatrisation) en limitent l'utilisation.

On constate après transplantation rénale chez l'enfant, une augmentation de l'incidence des tumeurs malignes, en particulier celle des syndromes lymphoprolifératifs. Le registre nord-américain indique la survenue de tumeurs malignes au cours des trois premières années suivant la transplantation chez 0,96 % des receveurs dans la cohorte d'enfants greffés entre 1987 et 1991 et 3,6 % des enfants greffés après 1996.

Si les traitements prophylactiques efficaces permettent d'éviter les infections à cytomégalovirus (CMV) et à pneumocystis, l'incidence des infections à virus BK a augmenté de façon significative. La survenue d'une néphropathie à virus BK est diagnostiquée en moyenne 10 mois après la greffe chez 4,6 % des enfants transplantés.

Le problème majeur pour le transplanté rénal comme pour le transplanté hépatique est l'inobservance thérapeutique à l'adolescence, responsable de dysfonctions tardives du greffon. En transplantation hépatique, il s'agit de la première cause de perte de greffon au-delà de 10 ans post-greffe. Ce problème de mauvaise observance du traitement immunosuppresseur est responsable d'au moins un quart des pertes de greffes rénales chez les adolescents.

---

# Recommandations

La transplantation d'organes demeure aujourd'hui la seule issue thérapeutique pour la plupart des pathologies conduisant à une perte irréversible de la fonction d'organes vitaux tels que le rein, le cœur, le foie ou le poumon et la meilleure issue thérapeutique en ce qui concerne le rein.

Au cours de l'expertise, les différentes recherches développées pour améliorer les résultats de la transplantation ont été analysées : induction de la tolérance, compréhension des mécanismes des rejets aigu et chronique ; optimisation des traitements par immunosuppresseurs ; recherche de nouvelles molécules d'immunosuppresseurs plus spécifiques ; exploration des mécanismes cellulaires et moléculaires d'ischémie/reperfusion et recherches sur de nouveaux agents protecteurs du greffon ; élargissement du pool des donneurs aux donneurs « marginaux » et tentatives de définition de scores de risque ; anticipation des complications avec des traitements optimisés.

La transdisciplinarité de la recherche en transplantation, unique en médecine, se retrouve aussi bien en recherche clinique qu'en recherche fondamentale. Il s'agit d'un bon exemple de recherche translationnelle. En effet, le suivi des patients transplantés permet d'explorer, dès leur initiation, les processus physiopathologiques complexes de tolérance et rejet ainsi que le développement de complications infectieuses, cardiovasculaires, métaboliques et de cancers. Ainsi, les recherches en transplantation permettent de compléter les connaissances dans diverses disciplines médicales. La transplantation fournit également un modèle idéal pour évaluer de nouvelles thérapies immunosuppressives ou immunomodulatrices. De nombreuses molécules d'abord utilisées en transplantation ont vu leur application dans d'autres domaines. La compréhension des phénomènes délétères qui accompagnent le prélèvement de l'organe, sa conservation et son implantation chez le receveur devrait déboucher sur des perfectionnements médicaux et chirurgicaux.

Un programme structuré de développement de la recherche en transplantation permettrait une articulation pertinente entre recherche fondamentale, recherche clinique et recherche thérapeutique.

## FINANCEMENT ET STRUCTURATION DE LA RECHERCHE EN TRANSPLANTATION

En France, le financement de la recherche clinique en transplantation vient majoritairement des PHRC (Programme hospitalier de recherche clinique),

des fondations, de fonds ciblés pour des thématiques plus larges, de l'Agence nationale de la recherche (ANR), de l'Agence de la biomédecine, des contrats d'aide à l'innovation Oseo, et des associations de patients. Il faut souligner le rôle des sociétés savantes et les participations de type mécénats et soutiens ponctuels de partenaires industriels. Il est également possible d'avoir des supports financiers des conseils régionaux ou des CHU. Plus récemment, de nouvelles ressources ont fait l'objet d'appels d'offres financés par les ministères en partenariat avec les organismes de recherche ainsi que les établissements de soins (AP-HP et CHU), les Réseaux thématiques de recherche et de soins (RTRS)<sup>31</sup>. Le but de certains appels d'offres est de créer des fondations qui peuvent, grâce à divers apports, se pérenniser dans le temps.

Par ailleurs, un certain nombre d'équipes participent actuellement à des réseaux européens de recherche (*Reprogramming the Immune System for the Establishment of Tolerance, Xenome...*).

Il faut souligner que dans les Instituts thématiques récemment créés par l'Inserm, la transplantation n'est pas individualisée. Par ailleurs, le terme « transplantation » n'apparaît pas en tant que tel dans les différents appels d'offres qui sont proposés. La difficulté réside donc dans l'insertion des projets de transplantation dans les appels d'offres qui ne sont pas prévus initialement pour cette thématique. Or, par définition, la transplantation est une activité transversale depuis l'immunologie fondamentale jusqu'à la prise en charge des complications de l'immunosuppression comme le cancer ou les infections chroniques par exemple. Par ailleurs, la thématique de l'ischémie/reperfusion spécifique au domaine de la transplantation, ne peut être financée dans le contexte actuel.

Concernant le financement et la reconnaissance de la discipline « transplantation », le groupe d'experts recommande :

- de proposer des thèmes spécifiques à la transplantation dans les réunions de préparation des appels d'offres européens ;
- d'inclure systématiquement la thématique transplantation dans les appels d'offres nationaux qui concernent les pathologies conduisant à la perte de fonction des organes pouvant bénéficier d'une transplantation (par exemple la mucoviscidose et la transplantation pulmonaire) ;
- d'individualiser l'item transplantation au sein des Instituts nationaux de recherche ;
- la reconnaissance d'une spécificité diplômante universitaire de la médecine de transplantation (DESC, Diplôme d'études spécialisées complémentaire)

---

31. Le réseau thématique translationnel de recherche et de soins dédié aux sciences de la transplantation (Centaure) est construit autour de la mutualisation de moyens conceptuels et logistiques de trois centres pivots ayant particulièrement innové dans le champ de la transplantation (Nantes, Lyon, Necker/Paris).

pour pallier le manque de visibilité de cette activité réalisée exclusivement dans les hôpitaux publics. La greffe devrait également être incluse dans la formation initiale et continue des médecins.

Concernant la structuration de l'activité de recherche en transplantation, le groupe d'experts propose de promouvoir :

- le soutien aux projets multicentriques qui permettent d'atteindre des cohortes significatives et de structurer l'activité de recherche clinique au niveau régional ou national. Dans ce but, il est important de disposer de financements permettant une aide à la conception et réalisation des études cliniques ;
- la constitution de registres détaillés de complications (cancer, néphrotoxicité, infections) permettant de faire des analyses fines et rigoureuses des modifications thérapeutiques et d'aboutir à des ajustements thérapeutiques (combinaison d'immunosuppresseurs, nouvelles classes thérapeutiques) ;
- la connexion des registres français avec les registres européens qui disposent de données conséquentes ; le développement de procédures simples d'accès aux données françaises et européennes.

Le groupe d'experts propose d'intégrer dans le développement de la recherche en transplantation les thématiques spécifiques qui ont fait l'objet de cette expertise et qui sont développées ci-dessous.

## Tolérance/rejet

Au cours des 30 dernières années, d'énormes progrès ont été accomplis dans le domaine des traitements immunosuppresseurs ayant pour but de prévenir ou de traiter le rejet d'allogreffe. Les immunosuppresseurs utilisés actuellement dépriment de manière globale l'immunité et sont dépourvus de toute spécificité contre les alloantigènes. Ainsi, ces traitements ne sont pas totalement efficaces (efficacité pour le blocage du rejet aigu mais pas sur le rejet chronique) et de plus engendrent une surimmunosuppression, cause d'une fréquence accrue d'infections et de tumeurs.

### DÉVELOPPER LES RECHERCHES SUR LA TOLÉRANCE IMMUNITAIRE

L'un des objectifs de la recherche est de pouvoir induire un état de « tolérance immunitaire opérationnelle » c'est-à-dire, l'absence de réponse immunitaire pathogène vis-à-vis des alloantigènes exprimés par le greffon sans affecter la capacité du receveur à réagir de manière efficace contre divers antigènes exogènes. Les données de la littérature montrent que la possibilité d'induire une tolérance immunitaire en transplantation n'est plus un mythe ou une possibilité exclusivement réservée au domaine de la greffe

expérimentale mais est en passe de devenir une réalité en clinique grâce à de nouvelles stratégies d'immuno-intervention.

Le groupe d'experts recommande :

- la poursuite de l'effort de développement de stratégies expérimentales permettant l'induction d'une tolérance d'allogreffe et la compréhension des mécanismes cellulaires et moléculaires qui la sous-tendent ;
- une incitation, par des moyens conséquents, au développement de nouveaux marqueurs immunologiques permettant de diagnostiquer et de suivre un état de tolérance immunitaire dans les modèles animaux et les études cliniques ;
- la promotion de protocoles cliniques de minimisation de l'immunosuppression comme étape préalable et éthiquement acceptable aux protocoles plus ambitieux d'arrêt complet de l'immunosuppression ; de faire la preuve de concept de ces protocoles d'immunosuppression sur des populations ciblées : patients à bas risque immunologique, cas particulier de la transplantation hépatique ;
- dans le cadre des protocoles utilisant les nouveaux immunosuppresseurs, la réalisation d'études ancillaires permettant la dissection fine des points d'impact de ces médicaments sur l'induction de la tolérance (développement de cellules régulatrices par exemple) ;
- la promotion systématique du monitoring immunologique des patients transplantés par une organisation en réseau centrée sur les laboratoires d'immunologie ayant l'expertise en transplantation et financés par des appels d'offres dédiés ;
- la promotion de protocoles de thérapie cellulaire chez l'homme en créant les conditions réglementaires nécessaires à leur réalisation.

#### **POURSUIVRE LES RECHERCHES SUR LES MÉCANISMES DES REJETS AIGUS ET CHRONIQUES**

L'incidence de rejet aigu à 1 an après transplantation varie entre 5 % (rein) et 50 % (poumon). La survenue du rejet aigu clinique et infraclinique est associée au développement du rejet chronique et est délétère sur la survie de la greffe à long terme. Les mécanismes effecteurs de la réponse allo-immune dans le rejet aigu et chronique ne sont pas encore totalement élucidés.

Le groupe d'experts recommande :

- le développement de la recherche en immunologie de transplantation visant à mieux connaître les mécanismes et la place respective des réponses immunes innée et adaptative, le rôle des cellules T mémoires et de l'immunité humorale dans la réponse allo-immune ;
- le développement de tests non invasifs pour augmenter la sensibilité et la spécificité des méthodes utilisées en pratique clinique pour la surveillance du statut immunitaire de la greffe ;

- concernant le rejet chronique, le développement et la validation de biomarqueurs de fibrose ou de fibrogenèse, voire de néphrotoxicité ou d'infection virale qui permettent d'affiner la spécificité de ce type de rejet ;
- la validation de nouvelles techniques de dosage des anticorps anti-HLA et la définition des conditions d'accès à la greffe et des stratégies immunosuppressives qui en découlent.

### **DÉVELOPPER LES RECHERCHES VISANT À OPTIMISER LE TRAITEMENT CURATIF DU REJET**

Le traitement curatif du rejet aigu est actuellement relativement homogène. En ce qui concerne le rejet aigu cellulaire, il s'agit de stéroïdes à fortes doses dans les formes les moins sévères et d'anticorps anti-lymphocyte dans les formes sévères. En ce qui concerne le rejet aigu humoral, il s'agit d'un traitement non standardisé associant stéroïdes, échanges plasmatiques, immunoglobulines et anticorps anti-CD20.

Le traitement du rejet chronique repose avant tout sur la connaissance des mécanismes immunologiques et non immunologiques du rejet, permettant de cibler l'un ou l'autre de ces composants et conduisant à une modification ou à un allègement de l'immunosuppression.

Le groupe d'experts recommande :

- le développement de nouveaux immunosuppresseurs (anticorps anti-récepteurs lymphocytaires) pour éviter l'utilisation des corticoïdes à fortes doses ;
- la standardisation du traitement du rejet humoral (études en cours) et la mise à disposition de molécules réellement efficaces sur les plasmocytes ;
- le développement de molécules interférant avec les mécanismes de progression des lésions du rejet chronique (inhibition des facteurs de croissance, blocage de la prolifération des cellules musculaires lisses...).

### **POURSUIVRE LES RECHERCHES SUR LES NOUVEAUX IMMUNOSUPPESSEURS**

Paradoxalement, alors que les progrès de l'immunosuppression ont permis une réduction de l'incidence du rejet aigu au cours de la première année de greffe, la durée de vie des greffons n'a pas augmenté de manière significative. En effet, les traitements immunosuppresseurs actuels contrôlent mal la réponse humorale et la réponse lymphocytaire T mémoire et restent inefficaces pour empêcher la progression du rejet chronique. La néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine est également une composante importante dans la perte des greffons rénaux à long terme. Par ailleurs, l'âge moyen de la population des patients transplantés augmente exposant davantage les receveurs au risque de cancer. L'âge moyen des donneurs augmente aussi, réduisant la qualité initiale des greffons.

Le groupe d'experts recommande de développer des nouveaux immunosuppresseurs ayant les propriétés suivantes :

- de nouveaux modes d'action, complémentaires des modes d'action existants : inhibition des lymphocytes mémoires, blocage de la synthèse des alloanticorps, et inhibition du rejet chronique actif médié par des anticorps, blocage de la progression des lésions vasculaires et de la fibrose ;
- un bon rapport bénéfique/risque sans effet néphrotoxique et avec une bonne tolérance globale ;
- des propriétés antitumorales ou pas d'effet protumoral ;
- un potentiel pour induire la tolérance ou respecter les cellules effectrices impliquées dans les mécanismes de tolérance.

### **UTILISER DE NOUVEAUX CRITÈRES D'EFFICACITÉ DANS LE DÉVELOPPEMENT CLINIQUE DES IMMUNOSUPPESSEURS**

Les critères principaux d'efficacité des immunosuppresseurs sont depuis 15 ans : l'incidence des rejets aigus, la survie des greffons et des patients, ainsi que des critères composites incluant ces principaux paramètres. Actuellement, avec la diminution du taux d'incidence du rejet aigu qui concerne moins de 15 % des patients en première greffe et la très bonne survie des patients et des greffons, d'autres critères d'évaluation sont nécessaires pour développer de nouveaux immunosuppresseurs et améliorer le ratio bénéfique/risque des traitements au long court.

Le groupe d'experts recommande :

- la promotion d'études d'au moins 3 ans pour le développement d'un nouvel immunosuppresseur ;
- l'évaluation systématique de la toxicité rénale par des critères biologiques (fonction rénale et protéinurie) et histologiques (marqueurs précoces de fibrose) ; de nouveaux biomarqueurs tissulaires et sanguins pourraient être issus de l'analyse du transcriptome, de la protéomique et de la génomique ;
- la recherche systématique des propriétés antitumorales des immunosuppresseurs ; la prise en compte des risques de cancer et du risque cardiovasculaire devrait devenir un objectif majeur de la conception de l'immunosuppression à long terme ;
- l'inclusion d'emblée des questionnaires de qualité de vie lors des études prospectives randomisées pivots ;
- l'introduction d'études de pharmacogénétique pour individualiser les traitements immunosuppresseurs ;
- l'inclusion dans les études cliniques prospectives des populations à risques, des patients hyperimmunisés, des patients âgés, des patients diabétiques et des patients infectés chroniquement par des virus (VHB, VHC, VIH).

## Ischémie/reperfusion

Il est maintenant clairement établi que le syndrome d'ischémie/reperfusion (I/R) lors du prélèvement de l'organe, sa conservation et son implantation chez le receveur joue un rôle clé dans le développement de la dysfonction précoce du greffon et du rejet chronique. Le processus physiopathologique de l'I/R met en jeu un ensemble complexe de phénomènes. La compréhension des mécanismes d'adaptation physiologique au stress engendré par l'ischémie constitue une des voies de recherche les plus prometteuses en termes d'applications médicales et de mise au point de moyens de conservation et de préservation des greffons.

### POURUIVRE LA CARACTÉRISATION PHYSIOPATHOLOGIQUE DU SYNDROME D'ISCHÉMIE/REPERFUSION

Les avancées récentes dans la compréhension des mécanismes physiologiques de l'I/R soulignent le rôle prépondérant de la production d'espèces radicalaires et de l'inflammation probablement responsable de l'aggravation mais surtout de la persistance de cette pathologie. L'I/R est également impliquée dans le lien entre les lésions qu'elle génère et l'immunité innée via la maturation des cellules dendritiques. L'étude moléculaire de l'I/R a mis en évidence certaines voies de signalisation telles que les voies pro- ou antiapoptotiques. Cependant, nous sommes loin actuellement de maîtriser tous les mécanismes impliqués dans l'I/R ainsi que les particularités liées à l'ischémie froide et à l'ischémie chaude.

Le groupe d'experts recommande de développer les recherches en physiopathologie concernant en particulier les points suivants :

- la caractérisation des mécanismes physiopathologiques impliqués dans le dommage mitochondrial ;
- l'identification des gènes contrôlant les mécanismes impliqués dans les dommages liés à l'I/R (*microarrays*) ;
- la détermination de la relation existant entre gènes cytoprotecteurs et gènes intervenant dans l'induction de l'immunité innée (exemple du gène codant pour HSP70 impliqué dans les deux phénomènes) ;
- la définition du rôle de l'I/R et de l'immunité innée dans le développement de la tolérance ;
- l'identification de protéines et de molécules impliquées dans les voies de signalisation requises pour l'activation du système immunitaire inné ;
- la reconnaissance des liens entre dommage induit par l'ischémie/reperfusion, dysfonction précoce du greffon et rejet chronique.

Il convient de souligner que les recherches sur l'I/R en transplantation doivent être pluridisciplinaires, organisées en réseau, s'appuyant sur des



outils de biologie intégrée avec une approche à l'échelle du génome, du protéome et du métabolome. Il est également nécessaire de caractériser des modèles expérimentaux pertinents *in vivo* pour ce type d'études.

### **RECHERCHER DES MARQUEURS DU SYNDROME D'ISCHÉMIE/REPERFUSION**

Actuellement, l'efficacité de toute stratégie pour améliorer la conservation du greffon ne peut être évaluée avec certitude qu'après l'implantation de ce greffon et sa revascularisation chez le receveur.

Le groupe d'experts recommande d'identifier des marqueurs de viabilité des organes :

- durant la phase précédant le prélèvement, compte tenu de l'impact des événements influençant l'état du donneur sur le devenir du greffon ;
- à la phase précoce de l'I/R dans le but de pouvoir utiliser des organes actuellement non utilisés faute de moyens précis d'évaluation. L'utilisation des machines de perfusion est une situation favorable pour mesurer des marqueurs de viabilité du greffon.

Le groupe d'experts recommande de rechercher des marqueurs pour l'évaluation des conséquences à long terme du syndrome d'I/R. La détermination de tels biomarqueurs peut faire appel à la biochimie ou la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire par exemple.

### **PROMOUVOIR LES RECHERCHES SUR LA CONSERVATION ET LA PRÉSERVATION DES GREFFONS**

Les solutions de conservation hétérogènes dans leur composition et leurs performances autorisent une durée de conservation d'environ 4-6 h pour le cœur et les poumons, 10-12 h pour le foie et 24 h pour les reins. Depuis 10 ans, l'approche commune pour améliorer la qualité de la conservation d'organe est fondée sur l'inhibition du métabolisme par l'hypothermie, la suppression de l'œdème cellulaire grâce aux agents imperméants et la stimulation du métabolisme énergétique lors de la reperfusion. De multiples agents protecteurs ont ainsi été testés. Cependant, les bénéfices observés en situation expérimentale se sont souvent traduits par des résultats peu probants en clinique. La validation des liquides de conservation reste confrontée aux difficultés méthodologiques de leur évaluation en clinique : hétérogénéité des conditions hémodynamiques des donneurs, temps d'ischémie chaude et froide très variables, hétérogénéité de l'état clinique des receveurs et des protocoles d'immunosuppression.

La perspective d'utiliser les organes de donneurs âgés, de donneurs marginaux et de donneurs à cœur arrêté (ayant subi une ischémie chaude) amène à s'interroger sur la pertinence des moyens de conservation existants.

Le groupe d'experts recommande de promouvoir des recherches concernant en particulier les points suivants :

- l'évaluation de la protection effectuée à l'aide d'agents pharmacologiques administrés au donneur dans le but d'inhiber des molécules délétères ou de renforcer les voies métaboliques protectrices ; les effets sur tous les organes susceptibles d'être prélevés chez le même donneur sont à évaluer ; l'aspect éthique doit être pris en compte (à quel moment le prétraitement peut-il débiter ?) ;
- la validation clinique d'interventions chirurgicales comme le préconditionnement à l'ischémie du greffon, le postconditionnement à la reperfusion, ou le conditionnement du receveur visant à diminuer les lésions de préservation/reperfusion ;
- l'utilisation du transfert de gènes potentiellement séduisant mais non dénué d'effets secondaires chez l'animal et qui pose des problèmes d'ordre éthique ;
- l'utilisation des machines de perfusion et les conditions de perfusion (température, pH, pression, composition des solutions...) ;
- le développement de nouvelles générations de solutions de conservation « métaboliquement actives » par adjonction de facteurs trophiques ou « immunomodulatrices » ;
- l'impact des moyens de conservation sur le devenir à long terme du greffon.

## Donneur/receveur

Il existe une pénurie de greffons pour toutes les transplantations d'organes solides. Pour faire face à cette situation, plusieurs stratégies ont été développées : réévaluation du pool de donneurs disponibles, choix de la technique chirurgicale optimisant le nombre d'organes pouvant être transplantés et sélection des receveurs les plus susceptibles de bénéficier de la transplantation en termes de survie. L'évaluation de ces stratégies est primordiale car le choix du couple donneur/receveur conditionne le devenir d'une allo-transplantation. Cette problématique est encore plus importante depuis l'utilisation de greffons à critères dits élargis appelés également donneurs marginaux.

## ÉTABLIR DES SCORES PRONOSTIQUES DE SURVIE

L'objectif principal de la transplantation d'organes est d'améliorer la survie des patients. Il a été démontré que pour certains patients, la transplantation cardiaque, pulmonaire ou hépatique n'améliorait pas leur survie. En

conséquence, les greffons disponibles devraient être préférentiellement attribués aux receveurs les plus susceptibles d'en bénéficier.

Le groupe d'experts recommande :

- le développement de scores pronostiques permettant de quantifier l'impact des caractéristiques du donneur sur la survie de l'organe et/ou du receveur ;
- l'intégration dans ces scores des caractéristiques du donneur et celles de l'interaction donneur/receveur (*mismatch* de taille, de sexe...) ;
- la validation de ces scores sur des cohortes importantes de patients, issus de centres voire de pays différents ; la mise en place de projets multicentriques impliquant la collaboration des registres français, européens et internationaux, via l'Agence de la biomédecine.

### **OPTIMISER LA TRANSPLANTATION AVEC UN GREFFON MARGINAL**

Par définition, le greffon marginal ne remplit pas l'ensemble des critères définissant le greffon idéal.

Dans le cadre de l'utilisation de greffons non optimaux, le groupe d'experts recommande :

- la mise au point de techniques d'évaluation de l'état de ces greffons à l'aide de critères biologiques (métaboliques, profils d'expression génique) ou cliniques ;
- la mise à disposition de moyens de préservation adaptés et performants ;
- l'évaluation de l'impact de la transplantation de ces greffons sur les succès de la transplantation ;
- la définition du receveur idéal d'un greffon marginal. Cette définition doit intégrer les critères démographiques (âge) et métaboliques (appariement des besoins métaboliques entre donneur et receveur). Les données expérimentales soulèvent la question d'un risque immunologique accru avec un greffon marginal. De vastes études cliniques sont nécessaires pour répondre à cette question ;
- l'optimisation de la prise en charge des patients transplantés avec un organe marginal. Elle implique l'évaluation de méthodes de conservation (réduction des durées d'ischémie froide) et de stratégies immunosuppressives adaptées aux greffons marginaux.

### **DÉFINIR LES POSSIBILITÉS D'ÉLARGISSEMENT DU POOL DES GREFFONS SELON LES ORGANES**

En transplantation rénale, les reins dits marginaux répondent à une définition établie à partir des études de registres, en particulier nord-américains. Par définition, les résultats obtenus à partir de ces greffons sont inférieurs en termes de survie à ceux obtenus avec des greffons « optimaux ».

Le prélèvement chez le donneur à cœur arrêté représente une source potentielle non négligeable de greffons. Le groupe d'experts recommande :

- une recherche clinique visant à évaluer la meilleure stratégie de préservation des différents types de greffons rénaux ; une évaluation des résultats obtenus avec ces greffons au plan national ;
- une évaluation des résultats de la transplantation rénale à partir de donneurs vivants ABO incompatibles en France.

Pour le poumon, le choix de la technique chirurgicale est déterminant pour le devenir de la greffe. En France, plus de 70 % des transplantations pulmonaires réalisées sont des transplantations bipulmonaires, les pratiques variant très largement d'un centre à l'autre. La supériorité de la transplantation bipulmonaire n'est cependant pas démontrée chez tous les patients (patients de plus de 60 ans) ni dans toutes les indications (fibrose pulmonaire). Le groupe d'experts recommande :

- une réflexion sur la réalisation systématique de transplantations monopulmonaires chez les patients âgés de plus de 60 ans ou souffrant de fibroses pulmonaires par exemple qui, à nombre de donneurs constant, permettrait d'augmenter sensiblement le nombre de transplantations.

En transplantation hépatique, les donneurs marginaux sont définis par un risque de défaillance du greffon plus élevé que celui d'un donneur « idéal », ou par le risque de transmission d'une maladie infectieuse, métabolique ou tumorale. Les principales sources d'extension des critères de sélection sont représentées par les donneurs âgés, les donneurs ayant une stéatose hépatique, une infection bactérienne ou virale, une pathologie tumorale et les donneurs à cœur arrêté. Plusieurs facteurs de risque peuvent être toutefois associés chez un même donneur. Certaines techniques chirurgicales conduisent également à des greffons marginaux, en particulier les foies partagés ou réduits. Le groupe d'experts recommande :

- l'établissement d'un score de risque en transplantation hépatique fondé sur des données de cohortes européennes ;
- le développement d'algorithmes pour l'attribution optimale des donneurs marginaux, établis à partir d'un score de risque fondé sur des bases de données suffisamment importantes ;
- des recherches destinées à mieux comprendre les interactions entre l'âge du donneur et la récurrence de l'hépatite C ;
- un recensement des greffons qui n'ont pas pu être partagés pour des raisons logistiques ou un manque de sensibilisation des équipes.

En transplantation cardiaque, les principales possibilités d'extension des critères de sélection des donneurs concernent le recours à des donneurs âgés, des donneurs avec des lésions coronaires modérées, des donneurs ayant une infection ou une pathologie tumorale. L'augmentation de la durée d'ischémie du greffon pourrait également contribuer à augmenter le nombre de greffons disponibles. Il est alors particulièrement important de s'attacher à assurer

une réanimation optimale et à protéger le myocarde per- et post-opératoire. Le groupe d'experts recommande :

- des recherches concernant le postconditionnement en transplantation cardiaque ;
- l'évaluation de l'intérêt du recours à des donneurs à cœur arrêté ;
- l'évaluation de machines de perfusion d'organe (éprouvées dans les prélèvements de reins) ; cette technique semble pouvoir limiter les conséquences de l'ischémie et permettre d'évaluer des greffons limites.

## **Complications après transplantation**

La transplantation d'organes reste une intervention source de nombreuses complications. L'immunosuppression utilisée pour prévenir le rejet augmente le risque et la sévérité des complications chirurgicales et les infections post-opératoires. Les immunosuppresseurs du type inhibiteur de la calcineurine ont en commun un effet néphrotoxique qui a des conséquences délétères à long terme. Enfin, le risque de cancer est augmenté chez les patients transplantés.

### **PRÉVENIR ET LIMITER LES COMPLICATIONS INFECTIEUSES, CARDIAQUES ET MÉTABOLIQUES CHEZ LE PATIENT TRANSPLANTÉ**

Il s'agit tout d'abord de diminuer les complications chirurgicales. Cet objectif passe par l'amélioration des techniques chirurgicales et l'utilisation de techniques microchirurgicales.

Les problèmes infectieux demeurent le problème majeur à court et moyen terme. Il existe un lien entre la survenue de complications infectieuses et la qualité des suites opératoires. Toute chirurgie non compliquée diminue le risque d'infection bactérienne.

Le groupe d'experts recommande :

- l'évaluation de l'impact des nouveaux immunosuppresseurs sur la survenue, le type et la sévérité des complications infectieuses en particulier les infections virales ;
- l'évaluation de façon optimale et en temps réel, du statut viral du donneur et du receveur et l'optimisation de la prévention (par exemple vaccination anti-VHB avant transplantation) ; une collaboration entre les centres de transplantation et des laboratoires de microbiologie et de virologie performants.

Les complications cardiovasculaires et dysmétaboliques sont de plus en plus fréquentes sur le moyen et le long terme. Le risque est fonction de l'immunosuppression mais également de l'infection par le VHC.

Le groupe d'experts recommande :

- une meilleure évaluation du risque en fonction du type d'immunosuppression ;
- des recherches sur les mécanismes liant le VHC et le diabète ;
- une approche pluridisciplinaire de la prise en charge des patients transplantés à long terme (prévention et traitement) ; une collaboration des centres de transplantation avec des cardiologues, nutritionnistes, endocrinologues et diabétologues.

### **PRÉVENIR ET LIMITER LA NÉPHROTOXICITÉ**

Les immunosuppresseurs du type inhibiteurs de la calcineurine ont en commun un effet néphrotoxique dû à une vasoconstriction qui a des conséquences délétères quel que soit le type d'organe transplanté. Cet effet se traduit sur le plan clinique par une insuffisance rénale aiguë ou chronique.

La physiopathologie de la néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine est encore mal connue. Des mécanismes nouveaux, rapportés dans la littérature, évoquent des lésions de transition épithélio-mésenchymateuse et endothélio-mésenchymateuse.

Le groupe d'experts recommande le développement de recherche sur les mécanismes engendrés par les inhibiteurs de la calcineurine afin de mieux prendre en charge la néphrotoxicité chez les patients transplantés.

### **PRÉVENIR ET LIMITER LES CANCERS**

Les cancers représentent une des principales complications tardives post-transplantation impactant sur la qualité de vie des patients transplantés et sur leur survie. Un des premiers facteurs prédisposant les patients transplantés au développement de cancers est la pathologie préexistante ayant conduit à la greffe : cancer rénal en transplantation rénale et carcinome hépatocellulaire associé aux virus des hépatites B et C en transplantation hépatique.

La survenue de cancers est également favorisée par le traitement immunosuppresseur. Certains immunosuppresseurs sont plus que d'autres susceptibles d'induire un cancer. Les cancers cutanés et les lymphomes post-transplantation sont les plus fréquemment rencontrés chez les patients transplantés.

Pour diminuer le risque de cancer, les équipes de transplantation ont proposé différentes stratégies de minimisation des traitements par immunosuppresseurs et le recours à de nouvelles classes thérapeutiques. Outre ces perspectives pharmacologiques, d'autres pistes peuvent être développées pour améliorer la survie et la qualité de vie des patients transplantés.

Le groupe d'experts préconise :

- l'exploration de nouvelles classes thérapeutiques immunosuppressives spécifiques de la relation hôte-greffon et moins susceptibles d'induire des dérégulations cellulaires ;
- une meilleure identification des facteurs de risque ou des facteurs de prédisposition génétique ;
- la constitution de registres exhaustifs spécifiquement dédiés au cancer avec un dépistage pré-transplantation et un suivi ciblé post-transplantation ;
- l'éducation des patients et la formation des équipes de transplantation.

# Note de lecture

Il est bon que de temps à autre, les grandes disciplines fassent le point de leur situation, tant sur le plan stratégique que des soins, de l'enseignement et de leur recherche en essayant également de poser clairement les questions (nombreuses... !) qui restent encore ouvertes.

Ceci est d'autant plus vrai pour une discipline comme la transplantation qui n'existe pas, au sens académique du terme, mais qui est à la fois transversale pour les organes (cœur, poumons, foie, reins, intestins, peau, tissus...) et pour les talents (médecins, chirurgiens, réanimateurs, biologistes, éthiciens, coordonnateurs...). Cette transversalité fait la force et la richesse de la transplantation d'organes et nombre de découvertes en transplantation sont venues d'horizons lointains et prouvent que la médecine moderne n'est qu'interfaces, sinon elle serait restée cantonnée aux sangsues et aux ventouses scarifiées... !

Il faut mesurer également les progrès faits en quarante ans : les taux de mortalité avoisinaient 20 à 30 % la première année après la transplantation, pour atteindre 4 % actuellement ; la survie du greffon à 1 an était aux alentours de 50 % voire moins, elle atteint plus de 90 % actuellement.

Cette médecine de « remplacement », qui sera peut-être suivie – et rendue obsolète – par une médecine « régénérative », pose des problèmes évoqués dans cet ouvrage : les mécanismes du rejet et de la tolérance aux allogreffes, l'immunosuppression, malheureusement encore « non spécifique » et pérenne, la préservation des organes, la pénurie d'organes et les complications chez les receveurs.

Tous ces chapitres entraînent bien sûr des questions sur le futur de la transplantation d'organes : une tolérance spécifique est-elle possible ? Comment essayer de résoudre le problème de la pénurie de donneurs ? Existe-t-il une possibilité de diminuer ou d'éviter l'énorme cohorte des complications de la transplantation d'organes ?

Un certain nombre de pistes sont tracées à la fin de cet ouvrage qui constituent des propositions de recommandations aux organismes pour la recherche future mais il faut rester très prudent en la matière : Sandoz et J.F. Borel en recherchant des molécules anti-protazoaires pour l'Afrique dans des produits de fermentation de champignons ne sont-ils pas tombés sur un peptide cyclique immunosuppresseur nommé ciclosporine A ? Ceci a permis de découvrir ensuite des facteurs de transcription phosphorylés chez les eucaryotes, inconnus des biologistes.



Cet ouvrage plaide pour des actions thématiques programmées consacrées à la transplantation, à la fois sur le plan financier et sur le plan des équipes, comme cela a déjà été fait en France pour le sida et pour le cancer.

Espérons que la transplantation et le don d'organes, grande cause nationale 2009, puissent bénéficier d'appuis réels et pérennes. Il est toujours étonnant de voir l'énorme écart entre les progrès conséquents faits en biologie fondamentale, en immunosuppression et en infectiologie et paradoxalement la nécessité d'avoir recours à des greffons de plus en plus « limites » et de qualité discutable, le tout pour gérer une pénurie criante d'organes.

Pour finir, évoquons cette phrase d'un Doyen célèbre qui disait « la médecine a transformé la société, la société a transformé la médecine, les médecins doivent en permanence changer de médecine ».

**Professeur Bernard Charpentier**

*Chef du Service de Néphrologie, Dialyses, Transplantation*

*CHU de Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre*

*Directeur de l'UMR U 542 de l'Inserm/Université Paris Sud 11*

*Ancien Président de l'European Society for Organ Transplantation (ESOT)*

# Note de lecture

Ce document collectif fait le point sur différents aspects de la transplantation d'organes en soulignant sa transdisciplinarité mais également les liens étroits entre activité clinique et activité de recherche. La transplantation d'organes reste en effet une activité de recherche même s'il s'agit d'une discipline médicale, voire la discipline médicale, où les plus grands progrès ont été effectués ces cinquante dernières années.

La première partie de cet ouvrage est une analyse critique approfondie des connaissances actuelles. Cette partie extrêmement détaillée et argumentée est déclinée en 5 rubriques :

- Tolérance et rejet en transplantation ;
- Immunosuppression et transplantation ;
- Préservation et reperfusion de l'organe greffé ;
- Caractéristiques du donneur conditionnant la greffe ;
- Origine et maîtrise des complications chez le receveur d'organe.

Les problèmes spécifiques de la transplantation chez l'enfant (transplantation rénale et hépatique), en particulier en termes de croissance et de répercussion psychologique sont abordés par deux communications confiées à deux spécialistes.

La lecture de cette première partie permet une connaissance précise, grâce à de très nombreuses références, du prodigieux acquis de ces dernières années mais également des limites et des progrès à faire.

La deuxième partie de l'ouvrage est constituée par une synthèse consacrée à l'identification des problèmes articulés autour de trois questions principales transversales :

- Comment appréhender les mécanismes des réponses immunitaires conduisant aux rejets ou à la tolérance d'un greffon et optimiser l'immuno-intervention ?
- Comment augmenter le pool des donneurs et optimiser la qualité des greffons pour lutter contre la pénurie actuelle et de plus en plus importante ?
- Comment éviter ou du moins limiter la complication des traitements immunosuppresseurs prolongés, complications infectieuses, cardiovasculaires, et surtout cancéreuses ?

Enfin, dans une dernière partie appelée recommandations, les experts formulent des propositions stratégiques visant à faire avancer la résolution de ces problèmes en soulignant l'articulation pertinente et l'interpénétration permanente entre recherche fondamentale, recherche clinique et recherche

thérapeutique. La transplantation d'organes est un merveilleux exemple de recherche translationnelle où la recherche fondamentale fait progresser les résultats cliniques, mais où aussi la recherche clinique et l'analyse de nouvelles thérapeutiques permettent une meilleure compréhension du fonctionnement du système immunitaire. Pour ne citer que deux exemples : l'utilisation de la ciclosporine a permis de mieux comprendre le rôle de la calcineurine dans l'activation lymphocytaire et l'utilisation du FTY 720 a permis de mieux comprendre les mécanismes de sortie des lymphocytes activés à partir des organes lymphoïdes secondaires.

Ceci montre l'intérêt d'associer équipes cliniques et équipes fondamentales dans des structures intégrées. Ceci montre également l'intérêt de regrouper les efforts des équipes françaises autour des axes clés définis dans cet ouvrage.

**Professeur Yvon Lebranchu**

*Directeur de l'EA 4245, Université François Rabelais, Tours  
Service de Néphrologie et Immunologie clinique,  
Hôpital Bretonneau, CHU de Tours, Tours*

# Note de lecture

Dans les années 1990, l'Inserm, sous l'impulsion de son Directeur général Philippe Lazar, a inauguré un nouveau service à la communauté : réaliser des expertises scientifiques dans des domaines clés de la santé publique à la demande de différentes institutions (Ministères, Agences, organismes de protection sociale...). Depuis 1994, plus de 60 expertises collectives ont été publiées sur des sujets très variés. Ces expertises fournissent des descriptions particulièrement documentées, multidisciplinaires constituant une aide à la décision publique pour les différentes institutions et décideurs politiques.

Le présent rapport d'expertise « Transplantation d'organes », commandité par l'Agence de la biomédecine, se situe dans un contexte sensiblement différent. En effet, dans ce cas précis l'Agence a souhaité une expertise résolument orientée vers les nouvelles possibilités que la recherche pouvait apporter aux domaines des transplantations. Ce rapport présente également une synthèse documentée des grands problèmes que pose la réalisation des transplantations.

Bien que demandé à un Institut de recherche, force est de constater que ce document place la clinique au centre de la réflexion. Cette caractéristique lui confère une crédibilité et une utilité indéniable qu'il faut saluer.

Toute expertise a néanmoins des limites et je voudrais évoquer dans cette note quelques points complémentaires à cette réflexion déjà fort conséquente.

Trois recommandations me paraissent particulièrement importantes dans le contexte actuel : il apparaît indispensable que l'Agence de la biomédecine qui coordonne l'ensemble de l'activité de transplantation, renforce des voies originales de recherche dans les différents domaines couverts par l'expertise en relation avec la spécificité du tissu médical et scientifique français.

Il paraîtrait également important de bien replacer les efforts de recherche dans le contexte de ceux coordonnés par la Commission Européenne.

Enfin, notre communauté doit s'autoriser un regard critique sur les dispositions actuelles concernant l'éthique de la transplantation dont les conséquences affectent la recherche et en particulier la recherche clinique.

À titre d'illustration du premier point, je prendrai l'exemple de la tolérance aux allogreffes. Il est dit à juste titre dans cette expertise qu'un demi-siècle après les expériences de Medawar et coll., les progrès cliniques, bien qu'encourageants restent très limités. En effet, dans l'article de Kawai et coll.

(2008)<sup>a</sup> (cité en référence dans cet ouvrage pour présenter l'induction de tolérance en clinique), un patient sur les cinq décrits a perdu définitivement son greffon suite à un rejet humoral, un autre a fait un rejet grave qui a cependant récupéré. En outre, les greffons ont présenté des dépôts de C4d des anticorps anti-donneurs. Il ne s'agit donc pas d'une véritable induction de tolérance. Les résultats sont néanmoins très intéressants car trois patients sont porteurs d'un greffon stable depuis plusieurs années en l'absence de traitement.

Il faut ajouter à ces travaux, l'observation d'un état de tolérance naturelle dans une centaine de cas répertoriés dans le monde. L'état de tolérance dite « opérationnelle » survenant chez des patients habituellement incompliants apparaît particulièrement « robuste » puisque la majorité de ces receveurs ont une greffe fonctionnelle après une ou deux décennies d'interruption du traitement immunosuppresseur.

Un programme européen (*Indices of Tolerance*) dans lequel la plus grande cohorte est française a permis de mettre en évidence une tolérance opérationnelle chez quelques patients. Par ailleurs, un programme américain *Immune Tolerance Network* (ITN) est également dévolu à l'étude de ces personnes transplantées présentant une tolérance opérationnelle. L'analyse de cet état de tolérance opérationnelle pourrait à terme révéler des informations importantes pour la compréhension de la tolérance chez l'homme. À ce titre, il est édifiant de voir que ce même phénomène, beaucoup plus fréquent après transplantation de foie, a pu permettre l'identification de signatures transcriptionnelles, validées dans des études cliniques prospectives, représentant une aide précise à la décision d'interrompre définitivement les immunosuppresseurs chez une proportion importante des greffés de foie (Martinez-Llordella et coll., 2008)<sup>b</sup>.

Le deuxième point sur lequel il me paraît utile de revenir est l'importance de l'effort européen dans le domaine de la recherche en transplantation. Le réseau Riset (*Reprogramming the Immune System for Establishment of Tolerance*), complémentaire du réseau « *Indices of Tolerance* » précédemment mentionné, est également dévolu à l'étude de la tolérance. Un domaine important couvert par Riset, susceptible de nouveaux développements financés par la Commission Européenne, concerne les biomarqueurs du risque en transplantation (biomarqueur du rejet, biomarqueur de la régulation ou de la tolérance). Le mot-clé biomarqueur qui sous-tend aussi la notion de « *surrogate marker* » précoce du devenir lointain d'un greffon est

---

a. KAWAI T, COSIMI AB, SPITZER TR, TOLKOFF-RUBIN N, SUTHANTHIRAN M, et coll. HLA-mismatched renal transplantation without maintenance immunosuppression. *N Engl J Med* 2008, 358 : 353-361

b. MARTÍNEZ-LLODELLA M, LOZANO JJ, PUIG-PEY I, ORLANDO G, TISONE G, et coll. Using transcriptional profiling to develop a diagnostic test of operational tolerance in liver transplant recipients. *J Clin Invest* 2008, 118 : 2845-2857

fondamental. Cette recherche est intimement liée aux banques de données et aux bio-collections. Développer des réseaux informatiques de données concernant la transplantation et construire des bio-collections de grande qualité et éthiquement irréprochables sont deux recommandations nécessaires à la recherche prospective de biomarqueurs de risque.

J'ajouterais également l'importance du programme européen *Xenome* qui porte sur la xénotransplantation et dont les recherches sont largement développées en France et en Europe. La recherche en xénotransplantation mérite une grande attention, et plus particulièrement en vue de l'obtention d'une source illimitée d'îlots pancréatiques. L'Europe, les États-Unis et des pays d'Extrême-Orient développent d'importants programmes de recherche sur la xénotransplantation. Les années 2009 et 2010 seront à ce titre des années clés car des études de phase I chez l'homme de xéno greffe d'îlots de porc seront initiées très vraisemblablement. Des essais concluants constitueront un nouveau défi dans le domaine de la transplantation qu'il est important que l'Agence de la biomédecine prenne en considération.

Un dernier point à souligner est que la recherche clinique dans le domaine de la transplantation me paraît fortement bridée par les procédures en cours dans notre pays et donc également dans l'institution qui a sollicité cette expertise. Je citerai quelques exemples. La France a pris un retard manifeste dans le domaine des transplantations de rein à partir de donneurs vivants. Une des raisons importantes de ce retard se situe dans la philosophie même de la procédure qui fait qu'une « innovation » n'est en fait acceptée que dans la mesure où elle vient en confirmation d'une innovation faite à l'étranger. Qui plus est, cet étrange processus d'innovation/validation est en général fondé sur de très petites cohortes de patients et ne peut donc en aucun cas représenter une validation. Enfin, l'évolution de la mise en place des procédures pourrait être encouragée. Un exemple serait la possibilité de réaliser un échange de greffons provenant de donneurs vivants pour permettre la réalisation de greffes ABO compatibles. Les mêmes remarques peuvent être faites sur l'introduction trop tardive de techniques comme les prélèvements sur les donneurs à cœur arrêté. Il me paraît important d'attirer l'attention de l'Agence de la biomédecine sur la nécessité de permettre un véritable processus d'innovation (c'est-à-dire de libérer l'esprit d'innovation) dans le domaine de la recherche en transplantation. À ce titre, les malades et la communauté médicale attendent beaucoup de la nouvelle discussion sur la loi de bioéthique. Dans le cadre de la réflexion actuelle, il serait souhaitable que les propositions importantes faites par l'Agence de la biomédecine et par l'Inserm trouvent des possibilités d'application<sup>c</sup>.

---

c. Voir les sites Internet de l'Inserm (<http://www.inserm.fr/fr/>) et de l'Agence de la biomédecine (<http://www.agence-biomedecine.fr/fr/index.aspx>)

Il me reste à souhaiter que cette expertise constitue une occasion de débattre et d'agir pour élargir la politique scientifique de l'Agence de la biomédecine. Issu des forces vives de la transplantation en clinique et en recherche dans notre pays, cet ouvrage mérite une attention non seulement de l'Agence mais également de toutes les institutions partenaires.

**Professeur Jean-Paul Soulillou**

*Directeur de l'ITERT,*

*Institut de transplantation et de recherche en transplantation,*

*Inserm U 643, Immunointervention dans les allo- et xénotransplantations,*

*CHU Jean Monnet, Nantes*

# Communications





---

# Transplantation rénale chez l'enfant

Il est bien admis que la transplantation rénale est le traitement optimal de l'insuffisance rénale chronique de l'enfant. De nombreuses études ont montré que la transplantation améliorerait le pronostic, les fonctions cognitives, l'intégration sociale et la qualité de vie.

## Indications de la transplantation rénale chez l'enfant

La survie des enfants transplantés rénaux est bien supérieure à celle des enfants traités par dialyse quel que soit l'âge de la transplantation. Les données recueillies aux États-Unis (USRDS, *United States Renal Data System*) indiquent que l'espérance de vie est supérieure chez les patients transplantés en comparaison aux enfants restant en dialyse avec une amélioration de 30 ans de l'espérance de vie pour les enfants de 0 à 14 ans. Globalement, dans cette tranche d'âge, la transplantation prolonge de 50 ans leur espérance de vie. Pour les enfants âgés de 15 à 19 ans, la différence d'espérance de vie entre les enfants transplantés et ceux restant en dialyse est de 25 ans, avec pour les transplantés une espérance de durée de vie supplémentaire de 40 ans.

L'insuffisance rénale terminale touche plus souvent les garçons que les filles (respectivement 60 % et 40 %). Les uropathies obstructives et les hypoplasies et dysplasies rénales représentent 30 % des causes d'insuffisance rénale terminale. Le syndrome néphrotique idiopathique corticorésistant est la troisième cause par ordre de fréquence représentant 12 % des causes d'insuffisance rénale terminale. Contrairement à ce que l'on observe chez les adultes, la cause précise est identifiée dans plus de 90 % des cas.

En France, le nombre d'enfants de moins de 16 ans qui atteignent le stade d'insuffisance rénale terminale nécessitant le recours à un traitement de suppléance (dialyse ou transplantation rénale) a été de 71 en 2006 et 74 en 2007. Le nombre de patients de moins de 16 ans inscrits sur la liste d'attente en vue d'une transplantation rénale était de 53 au 1<sup>er</sup> janvier 2006, également 53 au 1<sup>er</sup> janvier 2007 et 61 au 1<sup>er</sup> janvier 2008. Le nombre de nouveaux patients inscrits sur la liste d'attente a été de 85 et 88 durant les années 2006 et 2007. Durant les années 2006 et 2007, les nombres d'enfants ayant reçu une transplantation rénale ont été respectivement de 84 et 76. La

diminution du nombre de transplantations rénales effectuées en 2007 explique l'augmentation du nombre d'enfants en attente de greffe au 1<sup>er</sup> janvier 2008. La proportion de transplantations rénales « préemptives », c'est-à-dire avant le stade de la dialyse a été de 10,7 % en 2006 et 11,8 % en 2007.

## Caractéristiques des donneurs

En France, la proportion de greffes rénales chez l'enfant à partir de donneur vivant apparenté, le plus souvent un des deux parents a varié au cours des 5 dernières années entre 7 et 19 %, alors qu'en Amérique du Nord, cette proportion est de 52 %. La survie des greffes à partir de donneur vivant est significativement plus élevée que celle des greffes provenant de donneur décédé avec une différence de 10 % 5 ans après la transplantation. La date de la transplantation peut être programmée en dehors de l'urgence en fonction de la disponibilité du donneur et de l'organisation de l'équipe de greffe. La greffe à partir de donneur vivant permet d'éviter la période de dialyse ou d'en limiter la durée. Cela est important chez l'enfant dont la qualité de vie est améliorée par la greffe, la dialyse ayant des effets délétères au niveau des accès vasculaires pour l'hémodialyse ainsi que sur la croissance en taille, la vie familiale et sociale et la fréquentation scolaire. La médiane de la demi-vie d'une greffe de rein chez l'enfant étant d'environ 20 ans, une deuxième transplantation sera nécessaire pour la majorité d'entre eux. Le choix d'une greffe de donneur vivant peut se faire d'emblée ou pour une seconde greffe, sachant que les difficultés d'accès peuvent être plus grandes pour une seconde greffe en fonction d'une éventuelle immunisation et du fait que le receveur a dépassé l'âge de 18 ans (De Meester et coll., 2001).

Le rapport Nord Américain<sup>32</sup> indique que 25 % des transplantations à partir de donneurs en état de mort cérébrale proviennent de donneurs âgés de moins de 13 ans. Ce même rapport indique que 25 % des transplantations sont effectuées sans passage par le stade de dialyse (transplantation « préemptive »). Ces transplantations préemptives concernent 33 % des greffes de donneurs vivants et 13 % de donneurs décédés.

## Traitements immunosuppresseurs

Les traitements immunosuppresseurs prescrits après transplantation rénale pédiatrique ont changé au cours de la dernière décennie.

Les traitements d'induction sont de plus en plus utilisés depuis quelques années et des protocoles sont en cours d'évaluation dans le but en particulier de réduire ou d'éviter l'utilisation de corticoïdes et de réduire les doses d'anticalcineurines qui ont un effet néphrotoxique et qui ont un rôle majeur dans la néphropathie chronique d'allogreffe (Sarwal et coll., 2003 ; Delucchi et coll., 2007 ; Pedersen et coll., 2007 ; Weintraub et coll., 2008). Parmi les anticorps utilisés, certains sont déplétants, en particulier les globulines de lapin antilymphocytaires (thymoglobulines) (Schwartz et coll., 2007). L'alemtuzimab est un anticorps monoclonal déplétant dont la cible est la molécule CD52 présente sur les lymphocytes B, les lymphocytes T et les monocytes. L'administration de cet anticorps entraîne une déplétion profonde et prolongée des lymphocytes circulants, des cellules NK et des monocytes. Les anticorps monoclonaux dirigés contre le récepteur de l'interleukine 2 (R-IL2), basiliximab et dacluzimab, sont des anticorps non déplétants. Si la grande majorité des enfants en France reçoit ce type d'anticorps, un tiers des enfants en Amérique du Nord ne reçoit pas de traitement d'induction, 10 % reçoit des globulines de lapin anti-lymphocytaires et 55 % des anticorps monoclonaux anti-R-IL2. L'utilisation de l'anticorps monoclonal OKT3 a totalement disparu en transplantation rénale pédiatrique en raison des effets secondaires et à la suite d'une étude montrant que l'OKT3 ne réduit pas l'incidence du rejet aigu ni des pertes de greffes par rapport au traitement par ciclosporine (Benfield et coll., 2005).

L'utilisation prolongée de dacluzimab pendant les 6 premiers mois en association au tacrolimus et au mycophénolate dans un protocole sans corticostéroïdes a permis à l'équipe de Sarwal d'obtenir de bons résultats en greffe rénale chez l'enfant avec une incidence de rejets inférieure à 10 % (Sarwal et coll., 2003). Ce protocole est en cours d'évaluation dans un essai multicentrique du *National Institutes of Health*. Une autre étude a montré des résultats comparables avec une induction par deux injections de basiliximab, ce qui laisse penser qu'un blocage prolongé des récepteurs de l'IL-2 n'est pas forcément nécessaire.

L'utilisation d'anticorps déplétants (globulines anti-thymocytes ou alemtuzimab) avec une dose faible de tacrolimus sans autre traitement immunosuppresseur a été évaluée par Ellis et coll. (2007). L'incidence de rejet est faible (de l'ordre de 10 %) et la croissance des enfants et leur fonction rénale excellentes (Ellis et coll., 2007).

Les signaux de co-stimulation sont essentiels pour une stimulation efficace des lymphocytes T après la présentation des antigènes par les cellules présentatrices de l'antigène. Certains anticorps sont dirigés contre les molécules de co-stimulation. Le blocage de la voie CD40/CD40L qui avait donné de très bons résultats chez l'animal ne permet pas de prévenir le rejet chez l'homme et s'accompagne en plus de complications thrombo-emboliques. Plus récemment, une version modifiée de CTLA-4Ig, LEA29Y (belatacept), qui permet

une dissociation plus lente de ses ligands CD80 et CD86 a un effet immunosuppresseur important. Néanmoins, il n'y a pas eu d'essai d'arrêt des immunosuppresseurs dans les études réalisées jusqu'à présent (Larsen et coll., 2005 ; Vincenti et coll., 2005).

Les changements ont aussi été marqués par l'introduction de nouveaux immunosuppresseurs comme le mycophénolate mofétil et le tacrolimus. Le traitement immunosuppresseur administré à la fin du premier mois comportait une association de ciclosporine, azathioprine et corticoïdes dans un tiers des cas dans les années 1996-1997 alors que cette association n'est plus utilisée actuellement. L'association tacrolimus, mycophénolate mofétil et corticoïdes est actuellement la plus fréquente. Cette association permet de réduire les doses de corticoïdes et dans certaines équipes de proposer des protocoles sans corticoïdes ou avec un arrêt précoce de la corticothérapie. L'utilisation des inhibiteurs de mTOR (*mammalian target of rapamycin*) a jusqu'à présent été limitée chez l'enfant à des situations particulières comme une néphrotoxicité des anticalcineurines. En effet, les effets secondaires de ces drogues (hypercholestérolémie, pneumonie, anémie, lymphocèle, retard de cicatrisation) en limitent l'utilisation.

## Complications

Si l'on constate au fil des années une diminution de l'incidence des crises de rejet et une amélioration de la survie des greffes, nous observons en revanche une incidence grandissante de tumeurs malignes, en particulier les syndromes lymphoprolifératifs (Opelz et Dohler, 2004 ; Dharnidharka et Araya, 2007), probablement à rapporter à l'utilisation de traitements immunosuppresseurs plus puissants. Le registre Nord Américain<sup>33</sup> indique la survenue de tumeurs malignes au cours des trois premières années suivant la transplantation chez 0,96 % des receveurs dans la cohorte d'enfants greffés entre 1987 et 1991, 2 % des enfants greffés entre 1992 et 1995 et 3,6 % des enfants greffés après 1996.

Un autre marqueur d'une forte immunosuppression est l'incidence des complications infectieuses (Dharnidharka et coll., 2004 ; Puliyaanda et coll., 2007). Si les traitements prophylactiques efficaces permettent d'éviter les infections à CMV (cytomégalovirus) et le pneumocystis, l'incidence des infections à virus BK a augmenté de façon significative. Smith et coll. dans l'étude Nord Américaine (*North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies*, NAPRTCS) rapportent la survenue d'une néphropathie à virus BK chez 25 (4,6 %) des 542 enfants transplantés et diagnostiquée en moyenne 10 mois après la greffe (Smith et coll., 2007).

Les effets secondaires des traitements immunosuppresseurs expliquent un problème majeur chez certains transplantés, à savoir la mauvaise observance des traitements. Ceci est particulièrement vrai des adolescents chez lesquels il a été montré que le taux de mauvaise observance pouvait être jusqu'à 4 fois plus élevé que chez les adultes ou les enfants plus jeunes. Ceci explique que la survie des greffes dans cette tranche d'âge soit la moins favorable en comparaison avec les autres tranches d'âge. Ce problème de mauvaise observance du traitement immunosuppresseur est responsable d'au moins un quart des pertes de greffes chez les adolescents (Dobbels et coll., 2005). L'évaluation de ce problème reste difficile chez un patient donné.

**En conclusion**, la transplantation rénale est le traitement de choix de l'insuffisance rénale terminale de l'enfant. Les progrès dans la prise en charge des enfants et les nouveaux traitements immunosuppresseurs ont permis d'améliorer la survie des greffes. Les nouvelles voies ont pour but de limiter les effets secondaires de ces traitements en diminuant les corticoïdes et/ou les anticalcineurines. Une bonne adhésion au traitement demeure une préoccupation majeure, en particulier chez les adolescents.

*Patrick Niaudet et Rémi Salomon*  
Service de néphrologie pédiatrique,  
Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

## BIBLIOGRAPHIE

BENFIELD MR, TEJANI A, HARMON WE, MCDONALD R, STABLEIN DM, et coll. A randomized multicenter trial of OKT3 mAbs induction compared with intravenous cyclosporine in pediatric renal transplantation. *Pediatric transplantation* 2005, **9** : 282-292

DE MEESTER J, SMITS JM, OFFNER G, PERSIJN GG. Renal retransplantation of children: is a policy 'first cadaver donor, then live donor' an acceptable option? *Pediatric Transplantation* 2001, **5** : 179-186

DELUCCHI A, VALENZUELA M, FERRARIO M, LILLO AM, GUERRERO JL, et coll. Early steroid withdrawal in pediatric renal transplant on newer immunosuppressive drugs. *Pediatric Transplantation* 2007, **11** : 743-748

DHARNIDHARKA VR, ARAYA CE. Post-transplant lymphoproliferative disease. *Pediatric Nephrology (Berlin, Germany)* 2007, epub

DHARNIDHARKA VR, STABLEIN DM, HARMON WE. Post-transplant infections now exceed acute rejection as cause for hospitalization: a report of the NAPRTCS. *Am J Transplant* 2004, **4** : 384-389

DOBBELS F, VAN DAMME-LOMBAERT R, VANHAECKE J, DE GEEST S. Growing pains: non-adherence with the immunosuppressive regimen in adolescent transplant recipients. *Pediatric Transplantation* 2005, **9** : 381-390

ELLIS D, SHAPIRO R, MORITZ M, VATS A, BASU A, TAN H, et coll. Renal transplantation in children managed with lymphocyte depleting agents and low-dose maintenance tacrolimus monotherapy. *Transplantation* 2007, **83** : 1563-1570

LARSEN CP, PEARSON TC, ADAMS AB, TSO P, SHIRASUGI N, et coll. Rational development of LEA29Y (belatacept), a high-affinity variant of CTLA4-Ig with potent immunosuppressive properties. *Am J Transplant* 2005, **5** : 443-453

OPELZ G, DOHLER B. Lymphomas after solid organ transplantation: a collaborative transplant study report. *Am J Transplant* 2004, **4** : 222-230

PEDERSEN EB, EL-FARAMAWI M, FOGED N, LARSEN KE, JESPERSEN B. Avoiding steroids in pediatric renal transplantation: long-term experience from a single centre. *Pediatric Transplantation* 2007, **11** : 730-735

PULIYANDA DP, STABLEIN DM, DHARNIDHARKA VR. Younger age and antibody induction increase the risk for infection in pediatric renal transplantation: a NAPRTCS report. *Am J Transplant* 2007, **7** : 662-666

SARWAL MM, VIDHUN JR, ALEXANDER SR, SATTERWHITE T, MILLAN M, SALVATIERRA O JR. Continued superior outcomes with modification and lengthened follow-up of a steroid-avoidance pilot with extended daclizumab induction in pediatric renal transplantation. *Transplantation* 2003, **76** : 1331-1339

SCHWARTZ JJ, ISHITANI MB, WECKWERTH J, MORGENSTERN B, MILLINER D, STEGALL MD. Decreased incidence of acute rejection in adolescent kidney transplant recipients using antithymocyte induction and triple immunosuppression. *Transplantation* 2007, **84** : 715-721

SMITH JM, DHARNIDHARKA VR, TALLEY L, MARTZ K, MCDONALD RA. BK virus nephropathy in pediatric renal transplant recipients: an analysis of the North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies (NAPRTCS) registry. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007, **2** : 1037-1042

VINCENTI F, LARSEN C, DURRBACH A, WEKERLE T, NASHAN B, et coll. Costimulation blockade with belatacept in renal transplantation. *The New England Journal of Medicine* 2005, **353** : 770-781

WEINTRAUB L, LI L, KAMBHAM N, ALEXANDER S, CONCEPCION W, MILLER K, et coll. Patient selection critical for calcineurin inhibitor withdrawal in pediatric kidney transplantation. *Pediatric Transplantation* 2008, **12** : 541-549

# Transplantation hépatique chez l'enfant

Le nombre de transplantations hépatiques (TH) réalisées chez l'enfant âgé de moins de 16 ans représente environ 6 à 8 % du nombre total de TH réalisées chaque année en France, soit en moyenne 65 greffes par an (nombre relativement constant depuis 10 ans). Les deux tiers de ces greffes sont réalisés dans le groupe de transplantation hépatique pédiatrique à l'Hôpital Bicêtre. Les spécificités de la transplantation hépatique chez l'enfant tiennent essentiellement aux indications, au jeune âge des enfants, aux diverses techniques de prélèvement exposant à un risque accru de complications vasculaires et biliaires, et à la fréquence du syndrome lymphoprolifératif EBV-induit.

## Indications de la transplantation hépatique chez l'enfant

Les indications de TH sont caractérisées par la forte prédominance des maladies cholestatiques chroniques le plus souvent de début néonatal évoluant vers la cirrhose biliaire, par la nécessité d'une TH le plus souvent avant l'âge de 5 ans (médiane 2,5 ans) (figure 1), et enfin par la très faible proportion de maladies exposant à un risque de récurrence sur le greffon.

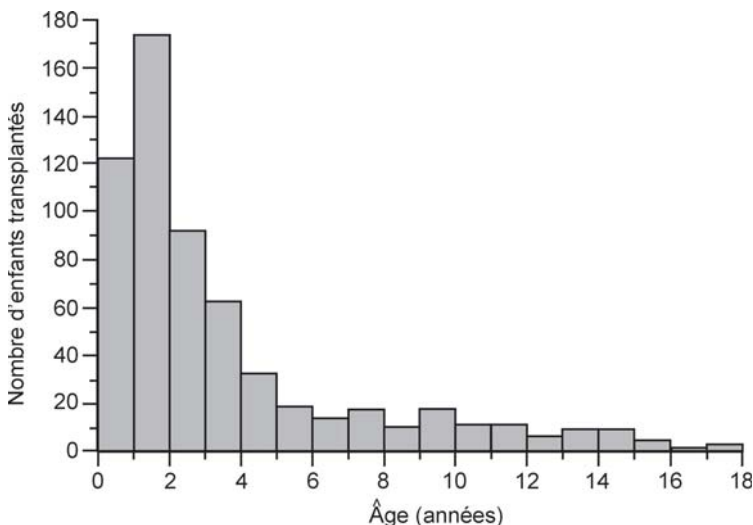
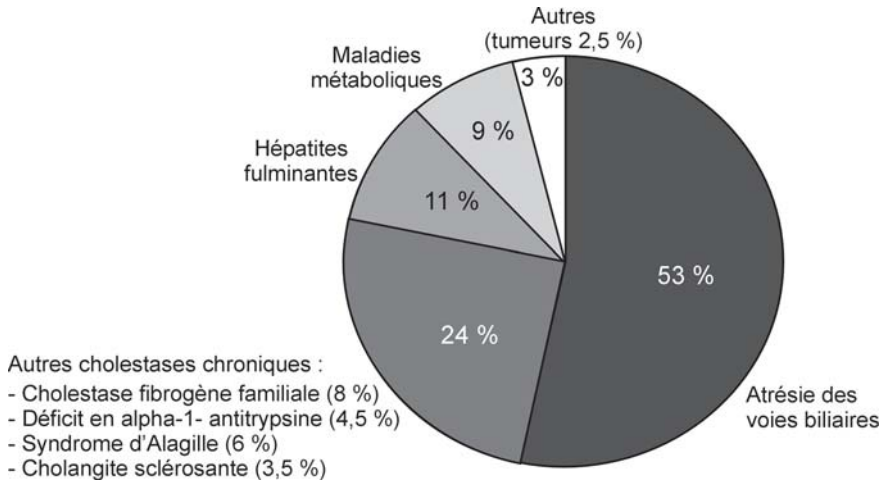


Figure 1 : Répartition selon l'âge à la transplantation hépatique (n = 527 enfants greffés par l'équipe de l'Hôpital Bicêtre de janvier 1988 à décembre 2007)



Les indications de transplantation hépatique chez l'enfant peuvent être classées en 3 groupes principaux (figure 2) : les maladies cholestatiques chroniques (dont l'atrésie des voies biliaires), l'hépatite fulminante et les maladies métaboliques.



**Figure 2 : Principales indications de transplantation hépatique chez l'enfant à l'Hôpital Bicêtre**

Alpha-1-AT : déficit en alpha-1-antitrypsine ; AVB : atrésie des voies biliaires ; CFF : cholestase fibrogène familiale ; CS : cholangite sclérosante

### Maladies cholestatiques chroniques

La principale indication de TH chez l'enfant est l'atrésie des voies biliaires (AVB) qui représente à elle seule plus de 50 % des indications (Chardot et coll., 1999). Les cholestases fibrogènes familiales, la cirrhose biliaire secondaire à un déficit en alpha-1-antitrypsine, le syndrome d'Alagille (ou paucité des voies biliaires intrahépatique syndromique) et la cholangite sclérosante constituent également une indication de TH soit en raison de complications liées à la cirrhose biliaire secondaire, soit en raison des conséquences de la cholestase (prurit invalidant, retard de croissance, fractures osseuses) même en l'absence de cirrhose, notamment dans le cas du syndrome d'Alagille (Debray et coll., 1994 ; Filipponi et coll., 1994 ; Cardona et coll., 1995 ; Baussan et coll., 2004).

### Hépatite fulminante

Lorsqu'elle est reconnue, la cause est d'origine virale le plus souvent (virus A essentiellement chez le grand enfant, virus B ou herpès hominis virus-6 chez

le nourrisson), auto-immune ou plus rarement toxique (Devictor et coll., 1992 ; Debray et coll., 1997 ; Durand et coll., 2001). Cependant, la cause reste fréquemment indéterminée (40 à 75 % des cas selon les études).

### Maladies métaboliques

Deux groupes de maladies métaboliques peuvent conduire à poser l'indication d'une TH :

- les maladies responsables d'une atteinte grave du foie (insuffisance hépatique aiguë, cirrhose, cancer du foie) telles que la maladie de Wilson, la tyrosinémie héréditaire, les anomalies de la chaîne respiratoire mitochondriale, les glyco-génoses de type I, III ou IV (Dubern et coll., 2001 ; Tissières et coll., 2003 ; Davis et coll., 2008 ; Masurel-Paulet et coll., 2008) ;
- les maladies dont le déficit enzymatique hépatique expose à des complications extra-hépatiques graves : neurologiques (maladie de Crigler-Najjar, déficit des enzymes du cycle de l'urée), rénales (oxalose de type I), cardiovasculaires (hypercholestérolémie familiale).

### Indications diverses

L'indication de TH peut être retenue en cas de tumeur du foie inextirpable chirurgicalement, soit bénigne mais exposant à un risque de dégénérescence secondaire (adénomes), soit maligne strictement limitée au foie (hépatocarcinome lié au virus de l'hépatite B, carcinome fibrolamellaire, hépatoblastome). La cirrhose secondaire à une hépatite chronique C et une hépatite auto-immune, le syndrome de Budd-Chiari, la fibrose hépatique congénitale représentent des indications exceptionnelles chez l'enfant.

## Préparation de l'enfant à la transplantation

Les maladies cholestatiques chroniques entraînent rapidement un retard de croissance staturo-pondérale chez l'enfant. La malnutrition est un mauvais élément pronostique pour le succès de la TH, d'où la nécessité de prendre des mesures symptomatiques (suppléments caloriques oraux, nutrition entérale à débit continu, parfois nutrition parentérale) et d'envisager précocement l'indication de TH avant les signes de décompensation d'une cirrhose afin de réaliser la greffe dans les meilleures conditions. À tout moment, une complication grave (hémorragie digestive, aggravation brutale des fonctions hépatiques, sepsis) peut survenir pouvant conduire au décès de l'enfant avant la transplantation ou à la nécessité d'une greffe urgente.

## Aspects techniques de la transplantation hépatique spécifiques à l'enfant

Le choix du greffon hépatique dépend essentiellement de l'âge et du poids du receveur et du donneur.

### Choix du greffon

#### *Compatibilité ABO*

La greffe hépatique est réalisée en compatibilité de groupe sanguin selon les règles de la transfusion sanguine. Néanmoins, les résultats de la greffe hépatique réalisée en situation d'incompatibilité de groupe sanguin donneur-receveur apparaissent satisfaisants lorsque le receveur est âgé de moins de 1 an (Yandza et coll., 1997 ; Egawa et coll., 2004). Cette situation mérite d'être considérée dans les situations de greffe extrêmement urgente chez le nourrisson (hépatite fulminante notamment).

#### *Âge du donneur*

Il n'y a pas de limite d'âge du donneur en deçà et au-delà de laquelle la greffe n'est pas réalisable. Cependant, l'utilisation de greffons de donneurs âgés de moins de 1 an (ou de poids < 10 kg) expose à un risque accru de thrombose artérielle et de perte du greffon (Cacciarelli et coll., 1999). Une diminution de la survie est également rapportée pour les greffons de donneurs âgés de plus de 50 ans (Hoofnagle et coll., 1996 ; Busuttill et coll., 2005). L'âge moyen des donneurs de foie en France est actuellement de 50 ans. Cependant, du fait des règles de répartition des greffons qui offrent en priorité les greffons de donneurs de moins de 30 ans aux receveurs de moins de 18 ans, la majorité des greffes réalisées chez l'enfant le sont avec des greffons de jeunes donneurs.

#### *Volume du greffon*

La greffe du foie entier est la technique la plus simple mais nécessite une adéquation de taille entre greffon et receveur et ne représente que 15 à 20 % du nombre total de greffes hépatiques pédiatriques depuis 2000. La relative rareté des prélèvements d'organes chez l'enfant et surtout la pénurie globale de greffons hépatiques ont conduit au développement de techniques chirurgicales particulières pour accroître les possibilités de greffe des enfants mais également des adultes et limiter les décès en liste d'attente. La réduction du foie au foie gauche ou au lobe gauche, après hépatectomie droite ou lobectomie droite, permet d'atteindre des disparités de poids donneur/receveur respectivement de 2 à 4 et de 4 à 10. La technique de bipartition hépatique (« greffon partagé » ou *split*) permet de créer 2 greffons à partir d'un foie d'adulte : le foie ou le lobe droit pour un receveur adulte et le foie ou le plus souvent le lobe gauche pour un jeune enfant. Enfin, le prélèvement du lobe

gauche du foie peut être réalisé chez l'un des 2 parents. Ce mode de prélèvement à partir d'un donneur vivant permet de programmer l'intervention chez un enfant encore en bonne condition générale avec un greffon de très bonne qualité et une brève ischémie froide mais n'est pas toujours réalisable sur le plan technique (incompatibilité de groupe sanguin, disparité de poids donneur/receveur > 8, particularités anatomiques, facteurs de risque de morbidité post-opératoire chez le donneur...). Le risque de mortalité du donneur est estimé à 0,5 % tout type de prélèvement confondu, mais ce risque apparaît nettement augmenté dans le cas d'un prélèvement de foie droit par rapport à un prélèvement de lobe gauche (Trotter et coll., 2006). La pénurie de greffons à l'origine d'une augmentation de la mortalité en liste d'attente des plus jeunes enfants, a été la justification principale du recours aux greffons partagés et au développement de la TH à partir d'un donneur vivant parental. Le pourcentage de TH réalisées à Bicêtre à partir d'un greffon partagé et d'un greffon de donneur vivant représente respectivement 50 % et 20 % du nombre total de TH pour la période 2003-2007.

### **Grefe hépatique**

Elle est réalisée habituellement en position orthotopique après ablation du foie malade. La phase d'hépatectomie totale est souvent difficile et hémorragique notamment en cas d'antécédents de chirurgie hépatobiliaire (AVB). L'anastomose artérielle est faite directement sur l'axe artériel du receveur ou sur l'aorte sous-rénale avec un greffon artériel du donneur interposé ; l'anastomose biliaire est dans la majorité des cas réalisée sur une anse jéjunale en Y soit préexistante (antécédent d'hépatoportoentérostomie) soit nouvellement créée.

### **Complications liées à la transplantation hépatique chez l'enfant**

Le jeune âge des receveurs et l'utilisation fréquente de greffons partagés ou de greffons de donneur vivant expliquent la fréquence des complications dans les suites de la greffe hépatique.

#### **Complications « chirurgicales » post-opératoires**

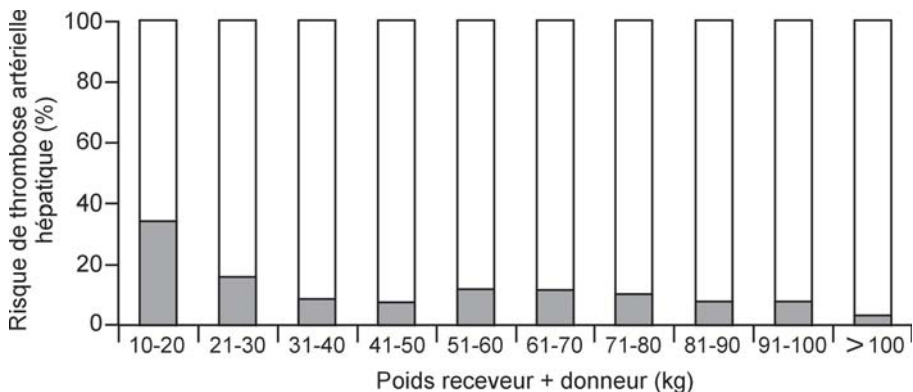
Les complications « chirurgicales » post-opératoires sont fréquentes (Fouquet et coll., 2005). Deux complications sont plus particulièrement à redouter en période post-opératoire immédiate : la dysfonction primaire du greffon et les complications vasculaires. Les complications biliaires, souvent retardées, dominant ensuite.

### ***Dysfonction primaire du greffon***

Elle est due à une souffrance ischémique du greffon et impose la re-transplantation en urgence. Sa fréquence est de l'ordre de 3 % après greffe d'un foie de donneur en mort encéphalique. Elle est exceptionnelle lorsque le prélèvement du greffon est réalisé chez l'un des 2 parents en raison notamment de la plus courte durée de l'ischémie froide du greffon.

### ***Complications vasculaires***

La fréquence de la thrombose de l'artère hépatique après TH chez l'enfant est de 2 % à 20 % selon les publications et de 10 % dans notre expérience personnelle. Elle est plus fréquente lorsque la somme des poids du donneur et du receveur est < 10 kg ou dans le cas de greffe de type « partagé » (figure 3). Les conséquences sont soit une nécrose massive du foie imposant une re-transplantation hépatique en extrême urgence (30 % des cas pour l'équipe de l'Hôpital Bicêtre), soit une nécrose ischémique des voies biliaires pouvant faire poser l'indication d'une re-transplantation à moyen terme en raison de complications infectieuses (cholangites bactériennes itératives) et du développement d'une cirrhose biliaire.



**Figure 3 : Risque de thrombose artérielle hépatique selon les poids du receveur et du donneur (610 TH réalisées chez 527 enfants de janvier 1988 à décembre 2007 par l'équipe de l'Hôpital Bicêtre)**

La thrombose de la veine porte (4 à 8 % selon les séries) s'observe plus particulièrement chez l'enfant greffé pour une AVB qui présente souvent une hypoplasie de la veine porte (Chardot et coll., 1997 ; Fouquet et coll., 2005). En l'absence de thrombose artérielle associée, elle est rarement à l'origine d'une insuffisance hépatique aiguë (< 10 % des cas), mais expose secondairement aux complications de l'hypertension portale.

La sténose de l'anastomose veineuse sus-hépatique est une complication rare (1 à 2 % des cas) qui concerne essentiellement les enfants ayant reçu un

lobe gauche avec anastomose directe de l'ostium veineux sus-hépatique du greffon sur la veine cave inférieure du receveur. Cette complication se révèle habituellement par une ascite réfractaire parfois dans des délais de plusieurs années après la greffe (syndrome de Budd-Chiari).

### ***Complications biliaires***

Elles sont observées dans 15 à 20 % des cas de TH chez l'enfant, plus particulièrement en cas de greffon de type « partagé » (notamment en cas de donneur parental) et en cas de thrombose de l'artère hépatique. Il s'agit le plus souvent de sténoses des voies biliaires intra-hépatiques ou de l'anastomose bilio-digestive, vraisemblablement d'origine post-ischémique associées ou non à une thrombose de l'artère hépatique. Une re-transplantation hépatique peut être indiquée en cas de cholestase sévère, de cholangites bactériennes itératives ou d'évolution vers la cirrhose biliaire.

### ***Complications digestives***

Elles sont notées dans moins de 5 % des cas de TH pédiatriques. Elles sont dominées par les perforations digestives qui s'observent plus particulièrement chez les enfants greffés pour une AVB, en raison de l'antécédent de chirurgie hépatobiliaire (Fouquet et coll., 2005).

## **Principales complications non chirurgicales**

### ***Rejet du greffon***

L'immunosuppression primaire classique associe, selon les équipes, la ciclosporine (Néoral®), les corticoïdes et le mycophénolate mofétil (Cellcept®) ou le tacrolimus (Prograf®) et les corticoïdes. La tendance actuelle est à l'arrêt précoce des corticoïdes en post-opératoire (3 mois à 6 mois) voire à leur éviction des schémas d'immunosuppression primaire. Un traitement d'induction par les anticorps monoclonaux anti-récepteur de l'interleukine-2 peut permettre d'éviter la corticothérapie et ainsi éviter ses effets secondaires en termes notamment d'ostéoporose et de retard de croissance (Gras et coll., 2008). Selon le type d'immunosuppression primaire, l'incidence du rejet aigu au cours des 3 premiers mois post-greffe varie de 50 % sous ciclosporine à 40 % sous tacrolimus (Kelly et coll., 2004). Le tacrolimus diminue le risque de rejet aigu précoce et surtout prévient plus efficacement que la ciclosporine le risque de rejet aigu cortico-résistant et de rejet chronique (Kelly et coll., 2004). Le taux global de rejet chronique du greffon conduisant à une re-transplantation hépatique est inférieur à 5 % dans la majorité des séries. En revanche, la réalisation d'une biopsie hépatique systématique à 10 ans de la greffe chez plus de 200 patients a révélé l'existence de signes histologiques compatibles avec un rejet chronique débutant chez 30 % d'entre eux (Fouquet et coll., 2005 ; Evans et coll., 2006). L'inobservance du

traitement immunosuppresseur à l'adolescence représente la principale cause (75 % des cas dans notre série) de perte du greffon au-delà de 10 ans post-transplantation.

### ***Complications infectieuses (> 60 % des cas)***

Les complications infectieuses surviennent dans plus de 60 % des cas de TH chez l'enfant et représentent la première cause de mortalité de ces enfants. Il s'agit avant tout d'infections bactériennes, d'origine abdominale (favorisées par les complications biliaires, vasculaires et digestives précitées), pulmonaire ou iatrogène (cathéters). Il peut s'agir également d'infections virales. La primo-infection à CMV (cytomégalovirus) est souvent peu symptomatique. La primo-infection à EBV (*Epstein Barr Virus*) est très fréquente (> 60 % des cas). Elle apparaît le plus souvent chez l'enfant séronégatif avant la greffe qui reçoit le greffon d'un donneur séropositif, exposant le jeune transplanté à un risque de syndrome lymphoprolifératif (SLP). La fréquence du SLP EBV-induit varie de 4 % à 11 % selon les études (Cacciarelli et coll., 2001). Le risque de SLP, plus important en cas de primo-infection qu'en cas de réactivation, apparaît plus important sous immunosuppression par le tacrolimus que par la ciclosporine. Le pronostic dépend de la date de survenue du SLP par rapport à la greffe, de la précocité du diagnostic et de la clonalité de la prolifération lymphoïde B. L'arrêt ou la réduction importante de l'immunosuppression permet souvent la régression des SLP précoces au stade d'hyperplasie lymphoïde polyclonale. Des résultats encourageants dans les formes plus sévères ont été obtenus avec l'emploi d'anticorps monoclonaux anti-CD20 (Nathanson et coll., 2002 ; Serinet et coll., 2002). La chimiothérapie est indiquée dans les cas de lymphomes non-hodgkiniens et lymphome de Burkitt dont la prévalence globale est de 1,5 % dans l'expérience de l'équipe de l'Hôpital Bicêtre.

### ***Allergie alimentaire***

La survenue d'une allergie alimentaire après transplantation hépatique se manifestant par un œdème des lèvres ou un œdème de Quincke est une complication sévère pouvant mettre en jeu le pronostic vital (1 décès et 1 enfant conservant des séquelles neurologiques graves dans la série de l'Hôpital Bicêtre). Cette complication est survenue chez environ 15 à 20 % des jeunes enfants (âgés de moins de 6 ans) traités par le tacrolimus versus 1,5 % chez ceux traités par la ciclosporine (Lykavieris et coll., 2003). Les mécanismes physiopathologiques de tels événements restent indéterminés.

### ***Insuffisance rénale chronique***

Sur une série de 125 patients évalués à 10 ans de la TH, près de 40 % présentent une diminution de la clairance plasmatique à l'EDTA dont la valeur est comprise entre 50 et 80 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> et pour 7 % des patients < 50 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Les raisons en sont multiples, mais dominées par les

perturbations circulatoires péri-opératoires et le traitement au long cours par les anti-calcineurines (ciclosporine ou tacrolimus). Des kystes rénaux souvent multiples et bilatéraux, associés à une diminution de la clairance rénale ont été découverts fortuitement à l'examen tomodensitométrique des reins chez près de 30 % des 108 enfants explorés à 10 ans de la greffe (Franchi-Abella et coll., 2007).

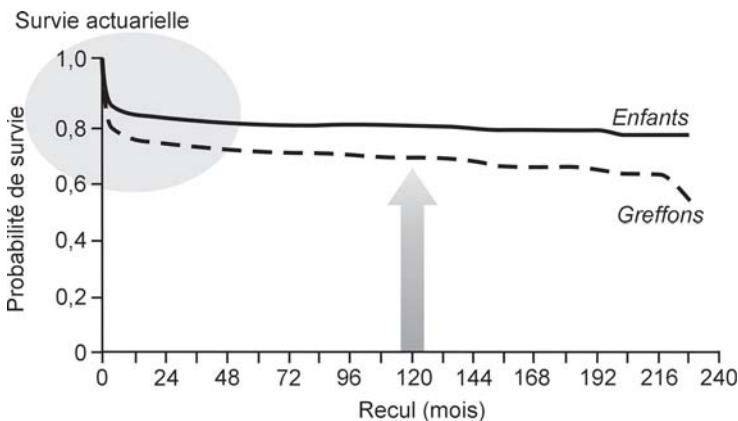
La prévention de l'insuffisance rénale chronique repose avant tout sur la réduction des doses d'anti-calcineurines sous couvert éventuellement de l'adjonction d'un autre immunosuppresseur non néphrotoxique (mycophénolate mofétil) (Evans et coll., 2005).

## Survie et qualité de vie post-transplantation

Malgré la fréquence des complications, la TH chez l'enfant offre un espoir de survie à long terme et une qualité de vie relativement satisfaisants.

### Survie des patients

La plupart des équipes rapportent un taux de survie actuarielle de 80 % à 90 % à un an et de 70 à 80 % à 5 et 10 ans. La figure 4 montre la survie actuarielle des 527 enfants transplantés hépatiques et suivis par notre équipe de janvier 1988 à décembre 2007. La majorité des décès est survenue dans les 3 premiers mois après la transplantation. La dysfonction primaire ou secondaire (après thrombose de l'artère hépatique) du greffon et les complications infectieuses représentent les premières causes de décès précoces.



**Figure 4 : Survie actuarielle (ou probabilité de survie) après transplantation hépatique chez l'enfant (610 TH réalisées chez 527 enfants de janvier 1988 à décembre 2007 par l'équipe de l'Hôpital Bicêtre)**



## Survie des greffons

Le taux de survie actuarielle des greffons varie de 60 à 75 % à 1 an et de 50 à 70 % à 10 ans selon les séries (figure 4). Les 3 principales circonstances amenant à une re-transplantation sont : la dysfonction secondaire du greffon après thrombose vasculaire (> 40 % des cas), la dysfonction primaire du greffon, les complications biliaires post-ischémiques, et le rejet chronique du greffon (60 % des causes de perte du greffon au-delà de 10 ans post-TH).

## Qualité de vie après transplantation hépatique

La qualité de vie est un élément subjectif qu'il est difficile d'apprécier chez l'enfant. On peut néanmoins tenter d'analyser, par différents indicateurs, si l'objectif d'une amélioration de la qualité de vie et si une insertion socioprofessionnelle satisfaisante sont atteints.

Un excellent rattrapage statural est observé durant les 3 premières années suivant la greffe dans la grande majorité des cas. Des grossesses ont été menées à terme, avec naissance d'enfants normaux après TH dans l'enfance.

Le développement intellectuel des enfants transplantés est normal dans la majorité des cas avec un niveau scolaire en rapport avec l'âge ou juste avec un an de retard chez plus de 60 % d'entre eux (Dommergues et coll., 2008). La qualité de vie après TH chez l'enfant, mesurée par auto-évaluation, a été peu étudiée mais paraît relativement satisfaisante. La plupart des patients vivent, à des degrés variables, des difficultés psycho-sociales en rapport avec la TH (Manificat et coll., 2003). Sur 116 patients (âge moyen de 21 ans) greffés du foie dans l'enfance à l'Hôpital Bicêtre, 81 % ont répondu être satisfaits ou très satisfaits de leur état de santé actuel, et 75 % de leur qualité de vie. Cependant, un grand nombre (53 %) de sujets ont dit être parfois ou souvent angoissés par leur état de santé. En ce qui concerne l'auto-évaluation de ces jeunes sur leur observance médicamenteuse, 55 % ont déclaré prendre leurs médicaments « très sérieusement », 38 % les prendre « juste sérieusement », 7 % « pas très sérieusement » ou « pas du tout » (Dommergues et coll., 2008). La fréquence de la mauvaise observance a été bien soulignée dans la littérature et notamment chez l'adolescent (Stuber et coll., 2008).

**En conclusion**, l'ensemble de ces résultats indique que la TH est un traitement efficace pour un très grand nombre de maladies létales ou invalidantes du foie de l'enfant donnant un espoir de survie de plus de 70 % à 10 ans. La mise au point de nouveaux protocoles d'immunosuppression devrait permettre de réduire l'incidence du rejet chronique et les effets secondaires à long terme des anticalcineurines, notamment rénaux. Le problème majeur est celui de l'inobservance thérapeutique à l'adolescence responsable de dysfonctions tardives du greffon.

*Dominique Debray*

*Service d'hépatologie pédiatrique, Pôle adolescent-mère-enfant  
AP-HP, Hôpital Bicêtre*

## BIBLIOGRAPHIE

BAUSSAN C, CRESTEIL D, GONZALES E, RAYNAUD N, DUMONT M, et coll. Genetic cholestatic liver diseases: the example of progressive familial intrahepatic cholestasis and related disorders. *Acta Gastroenterol Belg* 2004, **67** : 179-183

BUSUTTIL RW, FARMER DG, YERSIZ H, HIATT JR, MCDIARMID SV, et coll. Analysis of long-term outcomes of 3200 liver transplantations over two decades: a single-center experience. *Ann Surg* 2005, **241** : 905-916

CACCIARELLI TV, DVORCHIK I, MAZARIEGOS GV, GERBER D, JAIN AB, et coll. An analysis of pretransplantation variables associated with long-term allograft outcome in pediatric liver transplant recipients receiving primary tacrolimus (FK506) therapy. *Transplantation* 1999, **68** : 650-655

CACCIARELLI TV, REYES J, JAFFE R, MAZARIEGOS GV, JAIN A, FUNG JJ, GREEN M. Primary tacrolimus (FK506) therapy and the long-term risk of post-transplant lymphoproliferative disease in pediatric liver transplant recipients. *Pediatr Transplant* 2001, **5** : 359-364

CARDONA J, HOUSSIN D, GAUTHIER F, DEVICTOR D, LOSAY J, HADCHOUEL M, BERNARD O. Liver transplantation in children with Alagille syndrome--a study of twelve cases. *Transplantation* 1995, **60** : 339-342

CHARDOT C, HERRERA JM, DEBRAY D, BRANCHEREAU S, DE DREUZY O, et coll. Portal vein complications after liver transplantation for biliary atresia. *Liver Transpl Surg* 1997, **3** : 351-358

CHARDOT C, CARTON M, SPIRE-BENDELAC N, LE POMMELET C, GOLMARD JL, AUVERT B. Prognosis of biliary atresia in the era of liver transplantation: French national study from 1986 to 1996. *Hepatology* 1999, **30** : 606-611

DAVIS MK, WEINSTEIN DA. Liver transplantation in children with glycogen storage disease: controversies and evaluation of the risk/benefit of this procedure. *Pediatr Transplant* 2008, **12** : 137-145

DEBRAY D, PARIENTE D, URVOAS E, HADCHOUEL M, BERNARD O. Sclerosing cholangitis in children. *J Pediatr* 1994, **124** : 49-56

DEBRAY D, CULLUFI P, DEVICTOR D, FABRE M, BERNARD O. Liver failure in children with hepatitis A. *Hepatology* 1997, **26** : 1018-1022

DEVICTOR D, DESPLANQUES L, DEBRAY D, OZIER Y, DUBOUSSET AM, et coll. Emergency liver transplantation for fulminant liver failure in infants and children. *Hepatology* 1992, **16** : 1156-1162

DOMMERMUES JP, LETIERCE A, DESCOTS C, DEBRAY D. Suivi médical, vie quotidienne et vécu de jeunes adultes après transplantation hépatique (TH) dans l'enfance. *Arch Pediatr* 2008, **15** : 855-856

DUBERN B, BROUE P, DUBUISSON C, CORMIER-DAIRE V, HABES D, et coll. Orthotopic liver transplantation for mitochondrial respiratory chain disorders: a study of 5 children. *Transplantation* 2001, **71** : 633-637

DURAND P, DEBRAY D, MANDEL R, BAUJARD C, BRANCHEREAU S, et coll. Acute liver failure in infancy: a 14-year experience of a pediatric liver transplantation center. *J Pediatr* 2001, **139** : 871-876

EGAWA H, OIKE F, BUHLER L, SHAPIRO AM, MINAMIGUCHI S, et coll. Impact of recipient age on outcome of ABO-incompatible living-donor liver transplantation. *Transplantation* 2004, **77** : 403-411

EVANS HM, MCKIERNAN PJ, KELLY DA. Mycophenolate mofetil for renal dysfunction after pediatric liver transplantation. *Transplantation* 2005, **79** : 1575-1580

EVANS HM, KELLY DA, MCKIERNAN PJ, HÜBSCHER S. Progressive histological damage in liver allografts following pediatric liver transplantation. *Hepatology* 2006, **43** : 1109-1117

FILIPPONI F, SOUBRANE O, LABROUSSE F, DEVICTOR D, BERNARD O, et coll. Liver transplantation for end-stage liver disease associated with alpha-1-antitrypsin deficiency in children: pretransplant natural history, timing and results of transplantation. *J Hepatol* 1994, **20** : 72-78

FOUQUET V, ALVES A, BRANCHEREAU S, GRABAR S, DEBRAY D, et coll. Long-term outcome of pediatric liver transplantation for biliary atresia: a 10-year follow-up in a single center. *Liver Transpl* 2005, **11** : 152-160

FRANCHI-ABELLA S, MOURIER O, PARIENTE D, FRANK-SOLTYSIAK M, BERNARD O, DEBRAY D. Acquired renal cystic disease after liver transplantation in children. *Transplant Proc* 2007, **39** : 2601-2602

GRAS JM, GERKENS S, BEGUIN C, JANSSEN M, SMETS F, et coll. Steroid-free, tacrolimus-basiliximab immunosuppression in pediatric liver transplantation: clinical and pharmaco-economic study in 50 children. *Liver Transpl* 2008, **14** : 469-477

HOOFNAGLE JH, LOMBARDEO M, ZETTERMAN RK, LAKE J, PORAYKO M, et coll. Donor age and outcome of liver transplantation. *Hepatology* 1996, **24** : 89-96

KELLY D, JARA P, RODECK B, LYKAVIERIS P, BURDELSKI M, et coll. Tacrolimus and steroids versus ciclosporin microemulsion, steroids, and azathioprine in children undergoing liver transplantation: randomised European multicentre trial. *Lancet* 2004, **364** : 1054-1061

LYKAVIERIS P, FRAUGER E, HABES D, BERNARD O, DEBRAY D. Angioedema in pediatric liver transplant recipients under tacrolimus immunosuppression. *Transplantation* 2003, **75** : 152-155

MANIFICAT S, DAZORD A, COCHAT P, MORIN D, PLAINGUET F, DEBRAY D. Quality of life of children and adolescents after kidney or liver transplantation: child, parents and caregiver's point of view. *Pediatr Transplant* 2003, **7** : 228-235

MASUREL-PAULET A, POGGI-BACH J, ROLLAND MO, BERNARD O, GUFFON N, et coll. NTBC treatment in tyrosinaemia type I: long-term outcome in French patients. *J Inherit Metab Dis* 2008, **31** : 81-87

NATHANSON S, DEBRAY D, DELARUE A, DESCHÊNES G. Long-term survival after post-transplant lymphoproliferative disease in children. *Pediatr Nephrol* 2002, **17** : 668-672

SERINET MO, JACQUEMIN E, HABES D, DEBRAY D, FABRE M, BERNARD O. Anti-CD20 monoclonal antibody (Rituximab) treatment for Epstein-Barr virus-associated, B-cell lymphoproliferative disease in pediatric liver transplant recipients. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002, **34** : 389-393

STUBER ML, SHEMESH E, SEACORD D, WASHINGTON J 3<sup>rd</sup>, HELLEMANN G, MCDIARMID S. Evaluating non-adherence to immunosuppressant medications in pediatric liver transplant recipients. *Pediatr Transplant* 2008, **12** : 284-288

TISSIÈRES P, CHEVRET L, DEBRAY D, DEVICTOR D. Fulminant Wilson's disease in children: appraisal of a critical diagnosis. *Pediatr Crit Care Med* 2003, **4** : 338-343

TROTTER JF, ADAM R, LO CM, KENISON J. Documented deaths of hepatic lobe donors for living donor liver transplantation. *Liver Transpl* 2006, **12** : 1485-1488

YANDZA T, LAMBERT T, ALVAREZ F, GAUTHIER F, JACOLOT D, et coll. Outcome of ABO-incompatible liver transplantation in children with no specific alloantibodies at the time of transplantation. *Transplantation* 1994, **58** : 46-50



# Annexes



## ANNEXE 1

**Expertise collective Inserm : éléments de méthode**

L'Expertise collective Inserm<sup>34</sup> apporte un éclairage scientifique sur un sujet donné dans le domaine de la santé à partir de l'analyse critique et de la synthèse de la littérature scientifique internationale. Elle est réalisée à la demande d'institutions souhaitant disposer des données récentes issues de la recherche utiles à leurs processus décisionnels en matière de politique publique. L'Expertise collective Inserm doit être considérée comme une étape initiale, nécessaire mais le plus souvent non suffisante, pour aboutir aux prises de décision. Les conclusions apportées par les travaux d'expertise collective contribuent, mais ne peuvent se substituer, au débat des professionnels concernés ou au débat de société si les questions traitées sont particulièrement complexes et sensibles.

L'Expertise collective Inserm peut être complétée, à la demande d'un commanditaire, par une expertise « opérationnelle » qui s'intéresse à l'application des connaissances et recommandations en tenant compte de facteurs contextuels (programmes existants, structures, acteurs, formations...). Ce type d'expertise sollicite la participation d'acteurs de terrain susceptibles de répondre aux aspects de faisabilité, de représentants d'administrations ou institutions chargées de promouvoir les applications dans le domaine concerné, d'experts ayant participé aux expertises, de représentants d'associations de patients. La mise en commun de cultures et d'expériences variées permet une approche complémentaire à l'expertise collective dans un objectif d'opérationnalité. De même, différents travaux (recommandations de bonnes pratiques, audition publique...) conduits sous l'égide de la Haute autorité de santé (HAS) peuvent faire suite à une expertise collective Inserm.

L'expertise collective est une mission de l'Inserm depuis 1994. Une soixantaine d'expertises collectives ont été réalisées dans de nombreux domaines de la santé. L'Institut est garant des conditions dans lesquelles l'expertise est réalisée (exhaustivité des sources documentaires, qualification et indépendance des experts, transparence du processus).

Le Centre d'expertise collective Inserm organise les différentes étapes de l'expertise depuis la phase d'instruction jusqu'aux aspects de communication du rapport avec le concours des services de l'Inserm. L'équipe du Centre d'expertise collective constituée d'ingénieurs, de chercheurs et d'un secrétariat assure la recherche documentaire, la logistique et l'animation des réunions

---

34. Label déposé par l'Inserm



d'expertise, et contribue à la rédaction scientifique et à l'élaboration des produits de l'expertise. Des échanges réguliers avec d'autres organismes publics (EPST) pratiquant le même type d'expertise collective ont permis de mettre en place des procédures similaires.

### **Instruction de la demande**

La phase d'instruction permet de définir la demande avec le commanditaire, de vérifier qu'il existe bien une littérature scientifique accessible sur la question posée et d'établir un cahier des charges qui précise le cadrage de l'expertise (état des lieux du périmètre et des principales thématiques du sujet), sa durée et son budget à travers une convention signée entre le commanditaire et l'Inserm.

Au cours de cette phase d'instruction sont également organisées par l'Inserm des rencontres avec les associations de patients pour prendre connaissance des questions qu'elles souhaitent voir traitées et des sources de données dont elles disposent. Ces informations seront intégrées au programme scientifique de l'expertise. Pour certains sujets, un échange avec des partenaires industriels s'avère indispensable pour avoir accès à des données complémentaires inaccessibles dans les bases de données.

### **Mise en place d'un comité de suivi et d'une cellule d'accompagnement de l'expertise**

Un comité de suivi constitué de représentants du commanditaire et de l'Inserm est mis en place. Il se réunit plusieurs fois au cours de l'expertise pour suivre la progression du travail des experts, évoquer les difficultés éventuelles rencontrées dans le traitement des questions, veiller au respect du cahier des charges et examiner d'éventuels nouveaux éléments du contexte réglementaire et politique utiles pour le travail en cours. Le comité est également réuni en fin d'expertise pour la présentation des conclusions de l'expertise avant l'établissement de la version finale du rapport.

Pour les expertises traitant de sujets sensibles, une cellule d'accompagnement est également mise en place qui réunit des représentants de la Direction générale de l'Inserm, du conseil scientifique, du comité d'éthique de l'Inserm, du département de la communication, des chercheurs en sciences humaines et sociales et des spécialistes d'histoire des sciences. Cette cellule a pour rôle de repérer au début de l'expertise les problématiques susceptibles d'avoir une forte résonance pour les professionnels concernés et pour la société civile et de suggérer l'audition de professionnels des domaines connexes, de représentants de la société civile et d'associations de patients. En bref, il s'agit de prendre la mesure de la perception que les différents destinataires pourront avoir de l'expertise. Avant la publication de l'expertise, la cellule

d'accompagnement porte une attention particulière à la façon dont la synthèse et les recommandations sont rédigées incluant si nécessaire l'expression de différents points de vue. En aval de l'expertise, la cellule a pour mission de renforcer et d'améliorer la diffusion des résultats de l'expertise en organisant par exemple des colloques ou séminaires avec les professionnels du domaine et les acteurs concernés ou encore des débats publics avec les représentants de la société civile. Ces échanges doivent permettre une meilleure compréhension et une appropriation de la connaissance issue de l'expertise.

## **Réalisation de la recherche bibliographique**

Le cahier des charges, établi avec le commanditaire, est traduit en une liste exhaustive de questions scientifiques correspondant au périmètre de l'expertise avec l'aide de scientifiques référents du domaine appartenant aux instances de l'Inserm. Les questions scientifiques permettent d'identifier les disciplines concernées et de construire une arborescence de mots clés qui servira à une interrogation systématique des bases de données biomédicales internationales. Les articles et documents sélectionnés en fonction de leur pertinence pour répondre aux questions scientifiques constituent la base documentaire qui sera transmise aux experts. Il sera demandé à chacun des membres du groupe de compléter tout au long de l'expertise cette base documentaire.

Des rapports institutionnels (parlementaires, européens, internationaux...), des données statistiques brutes, des publications émanant d'associations et d'autres documents de littérature grise sont également repérés (sans prétention à l'exhaustivité) pour compléter les publications académiques et mis à la disposition des experts. Il leur revient de prendre en compte, ou non, ces sources selon l'intérêt et la qualité des informations qu'ils leur reconnaissent. Enfin, une revue des principaux articles de la presse française est fournie aux experts au cours de l'expertise leur permettant de suivre l'actualité sur le thème et sa traduction sociale.

## **Constitution du groupe d'experts**

Le groupe d'experts est constitué en fonction des compétences scientifiques nécessaires à l'analyse de l'ensemble de la bibliographie recueillie et à la complémentarité des approches. L'Expertise collective Inserm étant définie comme une analyse critique des connaissances académiques disponibles, le choix des experts se fonde sur leurs compétences scientifiques, attestées par leurs publications dans des revues à comité de lecture et la reconnaissance par leurs pairs. La logique de recrutement des experts fondée sur leur compétence scientifique et non leur connaissance du terrain est à souligner, dans la mesure où il s'agit d'une source récurrente de malentendus lors de la publication des expertises.

Les experts sont choisis dans l'ensemble de la communauté scientifique française et internationale. Ils doivent être indépendants du partenaire commanditaire de l'expertise et de groupes de pression reconnus. La composition du groupe d'experts est validée par la Direction générale de l'Inserm.

Plusieurs scientifiques extérieurs au groupe peuvent être sollicités pour apporter ponctuellement leur contribution sur un thème particulier au cours de l'expertise.

Le travail des experts dure de 12 à 18 mois selon le volume de littérature à analyser et la complexité du sujet.

### **Première réunion du groupe d'experts**

Avant la première réunion, les experts reçoivent un document explicatif de leur mission, le programme scientifique (les questions à traiter), le plan de travail, la base bibliographique de l'expertise établie à ce jour ainsi que les articles qui leur sont plus spécifiquement attribués selon leur champ de compétence.

Au cours de la première réunion, le groupe d'experts discute la liste des questions à traiter, la complète ou la modifie. Il examine également la base bibliographique et propose des recherches supplémentaires pour l'enrichir.

### **Analyse critique de la littérature par les experts**

Au cours des réunions, chaque expert est amené à présenter oralement son analyse critique de la littérature sur l'aspect qui lui a été attribué dans son champ de compétence en faisant la part des acquis, incertitudes et controverses du savoir actuel. Les questions, remarques, points de convergence ou de divergence suscités par cette analyse au sein du groupe sont pris en considération dans le chapitre que chacun des experts rédige. Le rapport d'analyse, regroupant ces différents chapitres, reflète ainsi l'état de l'art dans les différentes disciplines concernées par le sujet traité. Les références bibliographiques utilisées par l'expert sont citées au sein et en fin de chapitre.

### **Synthèse et recommandations**

Une synthèse reprend les grandes lignes de l'analyse de la littérature et en dégage les principaux constats et lignes de force. Certaines contributions d'intervenants extérieurs au groupe peuvent être résumées dans la synthèse.

Cette synthèse est plus spécifiquement destinée au commanditaire et aux décideurs dans une perspective d'utilisation des connaissances qui y sont

présentées. Son écriture doit donc tenir compte du fait qu'elle sera lue par des non scientifiques.

Dès la publication du rapport, cette synthèse est mise en ligne sur le site Web de l'Inserm. Elle fait l'objet d'une traduction en anglais qui est accessible sur le site du NCBI/NLM (*National Center for Biotechnology Information* de la *National Library of Medicine*) et Sinapse (*Scientific INformation for Policy Support in Europe*, site de la Commission Européenne).

À la demande du commanditaire, certaines expertises collectives s'accompagnent de « recommandations ». Deux types de « recommandations » sont formulés par le groupe d'experts. Des « principes d'actions » qui s'appuient sur un référentiel scientifique validé pour définir des actions futures en santé publique (essentiellement en dépistage, prévention et prise en charge) mais qui en aucun cas ne peuvent être considérés comme des recommandations « opérationnelles » dans la mesure où les éléments du contexte économique ou politique n'ont pas été pris en compte dans l'analyse scientifique. Des « axes de recherche » sont également proposés par le groupe d'experts pour combler les lacunes de connaissances scientifiques constatées au cours de l'analyse. Là encore, ces propositions ne peuvent être considérées comme des recherches « prioritaires » sans une mise en perspective qu'il revient aux instances concernées de réaliser.

### **Lecture critique du rapport et de la synthèse par des grands « lecteurs »**

Pour certaines expertises traitant de sujets sensibles, une note de lecture critique est demandée à plusieurs grands « lecteurs » choisis pour leurs compétences scientifiques ou médicales, exerçant des fonctions d'animation ou d'évaluation dans des programmes de recherche français ou européens ou encore participant à des groupes de travail ministériels. De même, le rapport et la synthèse (et recommandations) peuvent être soumis à des personnalités ayant une bonne connaissance du « terrain » et susceptibles d'appréhender les enjeux socioéconomiques et politiques des connaissances (et propositions) qui sont présentées dans l'expertise.

### **Présentation des conclusions de l'expertise et mise en débat**

Un séminaire ouvert à différents milieux concernés par le thème de l'expertise (associations de patients, associations professionnelles, syndicats, institutions...) permet une première mise en débat des conclusions de l'expertise. C'est à partir de cet échange que peut être établie la version finale du document de synthèse intégrant les différents points de vue qui se sont exprimés.

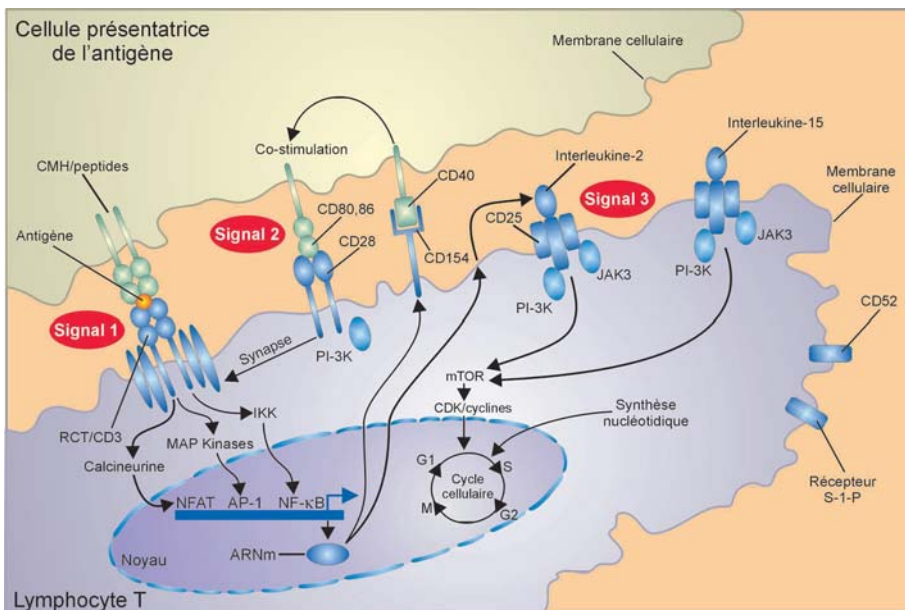


## ANNEXE 2

**Activation lymphocytaire T en transplantation**

Dans la greffe et dans les tissus environnants, les cellules dendritiques du donneur et du receveur migrent dans les zones riches en lymphocytes T des organes lymphoïdes secondaires du receveur.

L'antigène apprêté à la surface des cellules dendritiques (cellules professionnelles de la présentation de l'antigène) se lie aux lymphocytes T par l'intermédiaire du récepteur T (TCR, *T cell receptor*) qui transmet le signal 1. Un deuxième signal (signal 2) est initié suite à l'interaction entre les molécules CD80 et CD86 (molécules de co-activation) présentes sur la surface des cellules dendritiques et leur récepteur CD28 sur les lymphocytes. L'amplification du signal 1 par le signal 2 permet l'activation intracellulaire de plusieurs voies de signalisation : calcium/calciéurine, MAPK et  $\text{NF-}\kappa\text{B}$ . L'activation des facteurs de transcription qui en résulte favorise l'expression de nouvelles molécules par le lymphocyte T incluant l'IL-2 (interleukine-2), le CD154 et le CD25. L'IL-2 et d'autres cytokines (IL-15) en se fixant sur leurs récepteurs spécifiques activent la voie  $\text{PI3K/mTOR}$  (*mammalian target of rapamycin*) qui initie la prolifération des lymphocytes T (signal 3).

**Trois signaux d'activation lymphocytaire T (d'après Halloran, 2004)**

AP-1 : *activating protein-1* ; CDK : *cyclin-dependent kinase* ; CMH : complexe majeur d'histocompatibilité ; IKK :  $\kappa\text{B}$  kinase ; JAK3 : *Janus kinase 3* ; mTOR : *mammalian-target-of-rapamycin* ; NFAT : *nuclear factor of activated T cells* ;  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  : *nuclear factor- $\kappa\text{B}$*  ; PI-3K : *phosphoinositide-3-kinase* ; RCT : récepteur de la cellule T ; S-1-P : *sphingosine-1-phosphate*







Expertise collective

# Transplantation d'organes

## Quelles voies de recherche ?

Au cours des vingt dernières années, la transplantation d'organes a fait l'objet d'avancées majeures en chirurgie, médecine et recherche. Malgré un succès indéniable à court terme de la transplantation, les patients transplantés doivent faire face au risque de rejet chronique et à de nombreuses complications sur le long terme. Avec l'augmentation des maladies chroniques et le vieillissement de la population, les indications de transplantation se multiplient, entraînant une pénurie de greffons. Cette situation justifie de dresser la liste des acquis et de définir des axes de recherche à promouvoir.

À la demande de l'Agence de la biomédecine, l'Inserm a réuni un groupe d'experts spécialistes de différents domaines de la transplantation afin de réaliser, selon la procédure d'expertise collective, un bilan des connaissances scientifiques et médicales sur la transplantation d'organes solides (rein, foie, cœur, poumon).

Cet ouvrage analyse plusieurs domaines de recherche qu'il est nécessaire de développer pour améliorer les résultats quantitatifs et qualitatifs de la transplantation : l'élargissement du pool de donneurs, le prélèvement et la conservation du greffon, le développement de nouvelles stratégies immunosuppressives, la maîtrise des complications, la compréhension des mécanismes de tolérance et de rejet...

Les experts soulignent la dimension translationnelle et multidisciplinaire de la recherche en transplantation et insistent sur le développement d'un programme structuré de recherche dans le cadre d'une organisation en réseau des différents centres de transplantation et des laboratoires de recherche.

Prix : 40 €

ISBN 978-2-85598-872-1  
ISSN 1264-1782 **Inserm**[www.inserm.fr](http://www.inserm.fr)