



HAL
open science

Désimmunisation HLA chez des patients hyperimmunisés en transplantation rénale : l'expérience de deux centres français

Marine van Triempont

► **To cite this version:**

Marine van Triempont. Désimmunisation HLA chez des patients hyperimmunisés en transplantation rénale : l'expérience de deux centres français. Médecine humaine et pathologie. 2017. dumas-01670350

HAL Id: dumas-01670350

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01670350v1>

Submitted on 29 Jan 2018

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

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

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE ROUEN

Année 2017

**THÈSE POUR LE
DOCTORAT EN MÉDECINE**

(Diplôme d'État)

PAR MARINE VAN TRIEMPONT

NÉE LE 19/11/1989 A LESQUIN

PRESENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 05/10/2017

**DÉSIMMUNISATION HLA CHEZ DES PATIENTS
HYPERIMMUNISÉS EN TRANSPLANTATION RÉNALE :
L'EXPÉRIENCE DE DEUX CENTRES FRANÇAIS**

PRÉSIDENT DU JURY : Monsieur le Professeur Dominique Guerrot

DIRECTEUR DE THÈSE : Monsieur le Docteur François Provot

ASSESEURS :
Monsieur le Professeur Christian Noël
Monsieur le Professeur Marc Hazzan
Monsieur le Docteur Dominique Bertrand

Par délibération en date du 3 mars 1967, la faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

À mon Président de Jury,

Monsieur le Professeur Dominique Guerrot

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier de Néphrologie,

Faculté de Médecine de Rouen,

Chef de service de Néphrologie, Dialyse et Transplantation,

Hôpital Bois Guillaume, CHU de Rouen,

Tu me fais l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse,

Ton savoir et ta bienveillance m'ont permis de travailler dans une ambiance sereine durant l'internat,

Sois assuré de mon profond respect.

À mes Juges,

Monsieur le Professeur Christian Noël

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier de Néphrologie,

Faculté de Médecine de Lille,

Chef de pôle de Néphrologie, Dialyse et Transplantation,

Hôpital Claude Huriez, CHRU de Lille,

Chevalier de l'Ordre de la Légion d'Honneur,

Vous me faites l'honneur de juger ce travail, je vous en remercie.

Votre sens clinique suscite mon admiration,

Soyez assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect.

À mes Juges,

Monsieur le Professeur Marc Hazzan

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier de Néphrologie,

Faculté de Médecine de Lille,

Service de Néphrologie, Dialyse et Transplantation,

Hôpital Claude Huriez, CHRU de Lille,

Vous me faites l'honneur d'être membre du jury et je vous en remercie.

J'espère être digne de la confiance que vous m'accordez.

Je vous prie de trouver ici l'expression de mes respectueux remerciements et de ma reconnaissance.

À mes Juges,

Monsieur le Docteur Dominique Bertrand

Praticien Hospitalier,

Service de Néphrologie, Dialyse et Transplantation,

Hôpital de Bois Guillaume,

CHU de Rouen,

Tu me fais l'honneur de juger ce travail et je t'en remercie.

Être passée en « B » à tes côtés m'a beaucoup appris.

Sois assuré de mon profond respect.

À mon directeur de thèse,

Monsieur le Docteur François Provôt

Praticien Hospitalier,

Service de Néphrologie, Dialyse et transplantation,

CHRU de Lille

Tu m'as transmis ton affection pour la néphrologie dès l'externat. Tu m'as fait confiance pour concrétiser ce projet et cela a été un honneur d'y travailler avec toi. Ton humour et ta bienveillance sont des qualités précieuses.

Sois assuré de mon profond respect et de ma reconnaissance.

Merci,

À Arnaud Lionet, tes réflexions et ta collaboration ont permis de mener à bien ce projet.

À Julie Bloch, dont le travail a permis la naissance de celui-ci.

À Pauline Varlet, merci pour ta patience et tes réponses à mes questions « immunologiques ». J'espère pouvoir poursuivre mon apprentissage dans ce domaine en ta compagnie !

À tous les médecins du service de Néphrologie de Rouen : Mélanie, Charlotte, Ludivine, Isabelle et Franck. Vous m'avez accueillie en Normandie il y a maintenant 4 ans, j'ai beaucoup appris auprès de vous et je vous en remercie sincèrement. Mélanie, les visites en dialyse sans toi seront certainement moins joyeuses et surprenantes.

À mes co-internes et nouveaux chefs d'ici et d'ailleurs : Philippe mon binôme « poêle et crayon de bois » pendant plusieurs semestres, nos routes se séparent ici mais je sais que tu n'as pas fini de me faire rire; Marie-Charlotte tu resteras pour moi la « best CCA », même à l'autre bout du monde ; Maxime « grand bonhomme au cœur tendre » , il y aura toujours un gratin pour toi à la maison; Anaïs, les surprises de la vie m'ont permis de découvrir ta belle personnalité ; Gaspard que tes déambulations dans le service t'emmènent là où tu le souhaites, Mathilde, Lise, Audrey, Mouhad, Alexandre, Tristan, Margaux, Mélanie, Jonathan mais aussi Argile, Remi, Pascal, Elise, Linh.

À mes co-internes d'autres spécialités : Louise, Vero, Camille, Anne-Lise, Jean-Romain, Stéphanie, André, Elsa, Gwenaëlle, Emlyn, Gwendoline, Marine, Laura et les autres.

À toutes les équipes médicales que j'ai pu rencontrer durant mon internat qui font une partie de ce que je suis aujourd'hui : l'équipe de néphrologie Dieppoise, l'équipe d'hématologie de Becquerel, le service de réanimation de Dieppe, le service d'anatomo-pathologie Rouennais.

À toute l'équipe de néphrologie du CHRU de Lille, pour votre accueil et votre bonne humeur.

À toute l'équipe soignante.

Merci,

À toute ma famille, qui m'a soutenue tout au long de ce parcours.

À mes amis, qui sont précieux.

À Paul, tu rends ma vie heureuse.

LEXIQUE

HLA : human leucocyte antibody

CMH : complexe majeur

d'histocompatibilité

CDR : régions hypervariables d'une immunoglobuline

TCR : T cell receptor

CDR : complementary determining regions

FGF : facteur de croissance des fibroblastes

VEGF : facteur de croissance de l'endothélium

vWF : facteur de Von Willebrand

PRA : panel reactive antibody

FAG : facilité d'accès à la greffe

TGI : taux de greffons incompatibles

HAP : programme antigène permis

IgG : immunoglobuline G

IgM : immunoglobuline M

DTT : dithiothreitol

PRA : panel reactive antibody

cPRA : calculated panel reactive antibody

ABM : agence de la biomédecine

CREGs : cross reactive groups

DSA : Donor Specific Antibody

Fab : fragment antigen binding

Fc : fragment crystallizable

Cellules NK : natural killer

Ivlg : immunoglobulines polyvalentes

ICN : inhibiteurs de la calcineurine

DME : donneur en mort encéphalique

DV : donneur vivant

MMF : mycophenolate mofetil

DFG : débit de filtration glomérulaire

EBV : epstein barr virus

CMV : cytomégalovirus

VIH : virus de l'immunodéficience humaine

VHB : virus de l'hépatite B

VHC : virus de l'hépatite C

IFM : immunisé full match

ADCC : toxicité cellulaire médiée par les anticorps

Table des matières

I. INTRODUCTION	3
A. Le système HLA	3
1. Historique	3
2. Description moléculaire	4
3. Nomenclature.....	5
B. Immunisation anti HLA	5
1. Histoire naturelle.....	6
2. A l'échelle moléculaire	6
3. Sont-ils tous pathogènes ?	7
4. Effets pathogènes en transplantation d'organe.....	7
C. Techniques en HLA	8
1. Typage HLA.....	8
2. Recherche d'anticorps anti HLA	8
3. Le cross match.....	10
D. Recommandations de l'Agence de la Biomédecine	11
1. Initialement	11
2. Suivi sur liste.....	11
E. Notions pratiques et définitions	12
1. Le panel reactive antibody	12
2. Le taux de greffon incompatible	12
3. Le score de « facilité d'accès à la greffe »	12
4. Score REIN	12
5. Antigène interdit	13
6. Immunisation et hyperimmunisation	13
F. La population immunisée en transplantation rénale	14
1. Caractéristiques démographiques.....	14
2. Conséquences cliniques	14
3. Les solutions proposées pour la population immunisée en transplantation rénale	18
G. Les protocoles de désimmunisation en transplantation rénale	18
1. Objectifs	18
2. Thérapies utilisées.....	19
3. Résultats.....	23
II. MATÉRIEL ET MÉTHODE	27
A. Type d'étude	27
B. Receveurs	27
C. Donneurs	28
D. Protocoles de désimmunisation	28
E. Surveillance et accès à la greffe	32
F. Données recueillies	33

III.	RESULTATS.....	35
A.	Données par patient	35
1.	Patient n°1.....	35
2.	Patient n°2.....	39
3.	Patient n°3.....	44
4.	Patient n°4.....	50
5.	Patient n°5.....	54
6.	Patient n°6.....	59
7.	Patient n°7.....	64
8.	Patient n°8.....	68
9.	Patient n°9.....	73
10.	Patient n°10.....	76
B.	Synthèse des données.....	82
1.	Démographiques	82
2.	Immunologiques.....	83
3.	Evolution de la greffe	85
C.	Questionnaire	86
IV.	DISCUSSION	87
A.	Protocole de désimmunisation.....	87
1.	Techniques d'immunoabsorption	87
2.	Immunoglobulines polyvalentes	87
3.	Rituximab	88
4.	Induction et immunosuppression	89
B.	Caractéristiques des patients	89
1.	Caractéristiques de la population.....	89
2.	Immunsation selon les classes.....	89
3.	Origine de l'immunsation	90
C.	Efficacité immunologique du protocole	90
D.	Accès à la greffe	91
E.	Episodes de rejet.....	92
1.	Phénomène de rebond des DSA.....	92
2.	DSA <i>de novo</i> et phénomène de rejet	92
F.	Survie du greffon	93
G.	Infections, évènements indésirables et survie des patients	94
H.	Limites	95
1.	Des techniques de détection des anticorps anti HLA.....	95
2.	De la MFI	96
3.	Des scores.....	96
4.	De notre travail	97
I.	Quelles perspectives ?.....	97
1.	Dans l'allocation des greffons	97
2.	Immunologiques.....	98
3.	Thérapeutiques	99
V.	CONCLUSION	101

La greffe rénale constitue le traitement de choix de l'insuffisance rénale chronique, permettant une amélioration de la survie et de la qualité de vie des patients par rapport à la prise en charge en hémodialyse.

Cette pratique s'inscrit dans un contexte de barrières immunologiques en particulier HLA, de pénurie d'organes mais encore d'enjeux financiers et de contraintes de temps.

L'alloréactivité est un obstacle majeur à l'accès à une transplantation rénale mais également à la survie du greffon. L'évolution de la sensibilité des techniques de détection et de caractérisation des anticorps anti HLA implique des questions importantes quant à l'allocation des greffons et aux conséquences clinico-histologiques d'une immunisation anti HLA sur la survie du greffon. Le nombre de patients considérés comme immunisés a considérablement augmenté ces dernières années, imposant de nouvelles règles de répartition des greffons rénaux. Malgré cela, l'accès à la greffe pour certains de ces patients reste quasi nul. C'est pour cette population que les techniques de désimmunisation ont été développées.

I. INTRODUCTION

A. Le système HLA

1. Historique

Le système Human Leucocyte Antigen (HLA), décrit historiquement sur les leucocytes, est le principal déterminant dans l'acceptation d'un organe en transplantation rénale. Jean Dausset découvre ce système en 1952 grâce à l'étude des sérums de patients polytransfusés, lui valant le prix Nobel de médecine en 1980.

Ce système se caractérise par son poly-allélisme, son polymorphisme, sa codominance et sa transmission en bloc. Il existerait ainsi plusieurs millions de combinaisons phénotypiques possibles, faisant du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) un marqueur génétique incomparable. Il existe un déséquilibre de liaison entre les allèles expliquant la fréquence de certains allèles parmi des populations d'origines géographiques différentes.

Avec plus de 250 gènes, le système HLA représente environ 0,13 % du génome humain et environ 0,6% du protéome. A l'heure actuelle, il existe plus de 12000 allèles identifiés en classe I, et plus de 4000 en classe II. Au fil du temps, les nouveaux allèles et séquences découverts sont répertoriés dans une base de données publique.

2. Description moléculaire

Les gènes HLA sont localisés sur le bras court du chromosome 6, subdivisé en 3 régions. La première est celle du CMH de classe I comprenant les gènes du HLA A, B et Cw, la deuxième correspond aux trois paires de gènes de classe II : HLA DP (A et B), HLA DQ (A et B) et HLA DR (A et B).

Les produits des gènes sont des glycoprotéines membranaires hétérodimériques avec une même structure générale de deux domaines proximaux et deux domaines distaux. L'appariement de ces deux domaines délimite un sillon de présentation dans lequel s'enchâsse un peptide, selon des caractéristiques physicochimiques précises. Cet enchâssement est une condition nécessaire à l'expression de la molécule HLA à la surface de la cellule.

Les molécules HLA de classe I sont présentes sur toutes les cellules nucléées et les plaquettes ; à la différence des molécules de classe II exprimées sur les cellules présentatrices de l'antigène (cellules dendritiques, macrophages, lymphocytes B), les lymphocytes T et les cellules endothéliales activées.

De façon schématique, le complexe majeur d'histocompatibilité de classe I présente des fragments de protéines cytosoliques endogènes (du soi en fin de vie ou défectueuses, du « non soi » après transformation maligne de la cellule ou codées par un génome viral) ; et le CMH de classe II des fragments de protéines exogènes après digestion des fragments dans l'endosome. Les allo-antigènes peuvent ensuite être reconnus par le biais d'une alloréactivité indirecte (impliquant une cellule présentatrice du receveur) ou directe (impliquant les cellules présentatrices contenues dans le greffon). Le complexe protéine-CMH est reconnu par le T cell Receptor (TCR) des lymphocytes T CD4 et T CD8.

Chaque allotype HLA présente des peptides conformes à ses contraintes d'ancrage : caractère hydrophile/phobe et charge électrique. Les molécules HLA peuvent ainsi présenter des peptides de séquences différentes pourvu qu'ils respectent ces critères. Un antigène comporte le plus souvent un épitope dominant, seul pouvant être présenté à un lymphocyte T spécifique. Le paratope du

TCRalpha est en contact avec les acides aminés du peptide (1/3) et les acides aminés de la molécule HLA qui bordent le sillon (2/3).

3. Nomenclature

Durant le premier congrès international d'histocompatibilité en 1965 aux Etats-Unis, il a été décidé d'instaurer une nomenclature standardisée des antigènes HLA. La première édition de cette nomenclature est parue en 1968, permettant de qualifier les huit premiers antigènes. Elle a bien sûr beaucoup évolué, de façon parallèle à la découverte de nouveaux allèles et à l'apparition de nouvelles techniques HLA. La nomenclature utilisée actuellement est celle de WHO, actualisée régulièrement. Seul le typage allélique permet de déterminer avec précision les épitopes des molécules HLA.

Voici un exemple de typage allélique (« haute résolution ») :

HLA A*02 :01

HLA : complexe HLA

A représente le locus, c'est à dire le gène codant pour la molécule A

*02 est la série allélique correspondant à une spécificité sérologique

: 01 numéro de l'allèle dans la série allélique

B. Immunisation anti HLA

En transplantation rénale, la grande majorité des allo-antigènes du donneur reconnue par le receveur fait partie du CMH. Les autres antigènes, dont nous ne parlerons pas dans ce travail, sont ceux du groupe ABO et des complexes mineurs d'histocompatibilité tels que les MICA, MICB ou encore les antigènes non HLA exprimés par les cellules endothéliales et épithéliales.

1. Histoire naturelle

Les anticorps anti HLA sont des anticorps dits « immuns », c'est-à-dire absents à l'état naturel et apparaissant après un événement immunisant. On retrouve néanmoins, avec les techniques sensibles, des anticorps anti HLA en dehors de tout phénomène immunisant.

Les anticorps anti HLA sont la conséquence de phénomènes tels que :

- Une ou des grossesse(s)
- Une ou plusieurs transfusions sanguines
- Une ou des transplantations

La conjugaison de ces évènements majore le risque d'alloimmunisation anti HLA.

Au fil du temps, le devenir de ces anticorps anti HLA demeure incertain. Certains disparaissent mais il est difficile aujourd'hui de savoir s'il s'agit d'un véritable épuisement de leur fabrication, d'une diminution de ces anticorps en dessous du seuil de détection, d'une commutation isotypique ou encore de la présence d'anticorps anti-idiotypes.

Dans tous les cas il est important, avant de conclure, de vérifier que les sérums testés sont informatifs et les caractéristiques de la technique utilisée. Nous verrons un peu plus loin dans ce travail que les techniques d'identification de ces anticorps ont beaucoup évolué, parallèlement à la définition de l'immunisation.

2. A l'échelle moléculaire

Les anticorps anti HLA reconnaissent, sur les antigènes, des épitopes (de 15 à 20 acides aminés) définis structuralement par des eplets (configuration de 1 à 3 acides aminés sur la molécule HLA) considérés comme l'épitope fonctionnel. La moitié des épitopes de classe I sont restreints à un antigène alors que les autres sont partagés par d'autres antigènes (épitopes publics). Ces derniers sont à l'origine des cross reactive groups (CREGs), eux-mêmes responsables des positivité croisées contre différents antigènes. Pour être immunogénique, un épitope fonctionnel doit comporter au moins un acide aminé du non-soi à la surface de la molécule HLA pour entrer en contact avec les régions hypervariables (CDR) de l'anticorps.

3. Sont-ils tous pathogènes ?

Tous les anticorps anti HLA détectés ne sont pas « égaux » en terme de pathogénicité. Outre les spécificités liées à la technique de détection, plusieurs caractéristiques semblent devoir être prises en compte :

- L'isotype de l'anticorps anti HLA : les IgG étant considérées comme pathogènes à la différence des IgM,
- La sous-classe d'immunoglobuline G,
- La spécificité de l'anticorps anti HLA : les anticorps anti HLA de classe II étant réputés plus pathogènes,
- Leur capacité à fixer le complément.

Nous parlerons plus loin des travaux qui se sont intéressés à ces particularités et à leurs conséquences cliniques.

4. Effets pathogènes en transplantation d'organe

Les effets de ces anticorps anti HLA se fixant sur les cellules endothéliales du greffon sont multiples, médiés par la fraction constante ou variable. Les effets médiés par le fragment constant dépendent beaucoup du sous type d'anticorps anti HLA spécifique du donneur. Ils exercent leur effet délétère par le biais de l'activation du complément, d'une cytotoxicité dépendante du complément (ADCC), de la mobilisation de cellules phagocytaires et de la prolifération de l'endothélium.

Dans les phénomènes de rejet hyperaigu ou aigu, l'activation du complément par le fragment constant des anticorps anti HLA joue un rôle majeur. Ce rôle est moins évident dans le rejet humoral chronique. Par ailleurs, les anticorps anti HLA vont interagir par l'intermédiaire de leur fragment constant avec les cellules naturel killer (NK) et entraîner une lyse des cellules endothéliales (ADCC).

Par le biais de signaux intra cellulaires, les anticorps anti HLA de classe I vont induire une prolifération cellulaire et un réarrangement du cytosquelette. Ces mécanismes apparaissent centraux dans la pathogénèse du rejet humoral chronique. D'autre part, ces anticorps de classe I induisent la production de médiateurs pro prolifératifs comme le FGF ou le VEGF, mais également le recrutement des

leucocytes par l'intermédiaire du vWF et de la P selectine. Ces effets sont moins bien décrits et connus pour les anticorps anti HLA de classe II (1).

La présence de rejets humoraux ou de dépôts de C4d en dehors de toute détection d'anticorps anti HLA suggère le rôle d'anticorps non anti HLA, mal défini à l'heure actuelle. La fréquence de tels anticorps varie de 20 à 50 % dans la littérature. Plusieurs ligands ont été identifiés : le complexe MIC, les récepteurs vasculaires, certaines molécules d'adhésion...

C. Techniques en HLA

1. Typage HLA

Un typage sérologique peut être réalisé grâce à la lymphocytotoxicité. Elle est basée sur une réaction antigène-anticorps entre les cellules à tester et les puits contenant des spécificités HLA connues. Les cellules lysées après adjonction de complément sont colorées par un fluorochrome, ce qui permet de déterminer les antigènes HLA du patient. En biologie moléculaire, l'extraction de l'ADN puis l'amplification par PCR des fragments permet un typage allélique.

2. Recherche d'anticorps anti HLA

La recherche d'anticorps anti HLA s'effectue grâce à des techniques dites « en phase cellulaire » ou « en phase solide », plus sensibles. Lorsqu'un anticorps anti HLA est dirigé contre un antigène du donneur, il s'agit d'un donor specific antibody (DSA).

a) Technique en phase cellulaire : la microlymphocytotoxicité

Il s'agit d'une technique utilisant un panel antigénique sur les lymphocytes, en majorité T. Si des anticorps dans le sérum reconnaissent un ou des antigène(s) du panel, la cellule cible est lysée lors de l'adjonction de complément. Cette technique permet le calcul du panel reactive antibody (PRA).

Avant l'arrivée des techniques sensibles, un patient sur liste était considéré comme immunisé si un ou plusieurs sérums présentaient une activité cytotoxique de type IgG dépendante du complément contre un panel de lymphocytes T ou totaux. Dans les cas de patients hyperimmunisés avec des sérums polyspécifiques, il n'était pas possible de déterminer avec précision toutes les spécificités, particulièrement en cas de titre faible ou de faible fréquence. Comme les lymphocytes B ne représentaient qu'un faible pourcentage du panel, l'immunisation en classe II était sous-estimée.

b) Techniques en phase solide

Plus sensibles, ces techniques immuno-enzymatiques indirectes utilisent comme cibles des antigènes HLA purifiés (A, B, DR, DQ, Cw, DP), fixés sur un support, et comme révélateur des anti immunoglobulines humaines couplées à un fluorochrome. Il existe différents modes d'applications de ces techniques en phase solide, du dépistage ou « screening » permettant de calculer le « panel reactive antibody » (PRA) jusqu'à l'identification de spécificités sur antigènes séparés ou « single antigen ».

Parmi elles, c'est la fluorimétrie en flux ou Luminex qui est la plus largement répandue. La gamme Luminex complète en classe I et II est aboutie depuis fin 2007, avec une couverture épitopique proche de 100 %. Aujourd'hui, deux laboratoires utilisent la technique Luminex : Immucor et Ingen. La puissance des anticorps anti HLA y est déterminée par l'intensité de la fluorescence moyenne, autrement dit l'intensité de la fluorescence de la réaction entre l'anticorps et l'antigène HLA perçue par le cytomètre de flux. Les résultats sont exprimés en BCM (en Immucor) et en MFI (en Ingen), ces valeurs n'étant pas comparables. Comme il s'agit d'une méthode semi-quantitative non standardisée, les MFI d'un même sérum vont varier d'un laboratoire à l'autre, de même que le seuil d'interdiction d'un anticorps qui est déterminé par chaque laboratoire. En France, l'agence de la biomédecine fixe une MFI de DSA inférieure à 3000 pour autoriser la greffe, sous réserve d'un cross match en lymphocytotoxicité négatif. En dessous de 500, on ne tient pas compte de la spécificité.

Elles sont capables de détecter les isotypes IgG seulement, les anticorps de classe I et II, les anticorps à titre faible, les anticorps non cytotoxiques ou ne fixant pas le complément. Mais ces techniques sensibles présentent également des inconvénients : la présence de faux positifs dus à la présence

d'anticorps naturels anti HLA ou d'anticorps anti HLA dénaturés, de faux négatifs par l'effet pro-zone ainsi que des problèmes de reproductibilité et d'interprétations.

A l'heure actuelle, les techniques de détection des anticorps anti HLA et les connaissances scientifiques ne permettent pas de définir avec certitude la pathogénicité d'un anticorps anti HLA identifié. Il est néanmoins reconnu qu'ils n'ont pas tous le même pouvoir pathogène, les phénomènes de rejet ou de perte du greffon n'étant pas systématiques.

3. Le cross match

Le jour de la greffe, un cross match en lymphocytotoxicité est réalisé de façon obligatoire. La positivité de ce dernier reste, depuis les travaux de Terasaki, une contre-indication absolue à la greffe. Un cross match positif contre les lymphocytes B pose question puisqu'ils portent des antigènes de classe I et II, sont capables de fixer des complexes immuns à leur surface, et sont la cible d'autoanticorps. Dans le cas d'un cross match T négatif-B positif, la greffe est possible en s'assurant qu'il ne s'agit pas d'anticorps anti HLA de classe I. L'ajout de dithiothreitol (DTT) permet de s'affranchir de la présence d'IgM, l'utilisation d'une antiglobuline ou anti IgG humaine polyclonale a pour objectif de mettre en évidence des isotypes n'activant pas le complément ou en trop faible concentration.

Il est aussi possible de réaliser un cross match par cytométrie de flux, notamment pour le donneur vivant. Plus sensible, cette méthode plus longue et fastidieuse met en évidence la réactivité du sérum du patient contre les cellules du donneur avec un marquage des anticorps anti-HLA. Ce test peut définir l'isotype d'immunoglobuline réactive (IgM ou IgG) et le type de cellule (anticorps anti-CD3 et anti-CD20 marqués pour mettre en évidence respectivement les cellules T et les cellules B). Les conséquences d'un cross match positif en cytométrie de flux T et/ou B sont encore débattues. Sa positivité ne constitue pas une contre-indication à la greffe.

Grâce à la saisie, dans Cristal, des anticorps anti HLA du receveur et la connaissance du typage HLA du donneur, on peut connaître virtuellement la positivité ou négativité du cross match le jour de la greffe avec une sensibilité de 86% et une spécificité de 96%.

D. Recommandations de l'Agence de la Biomédecine

1. Initialement

Lors de l'inscription d'un patient sur liste, son typage HLA est déterminé en A, B, DR, DQ. Ces données sont inscrites selon la nomenclature sérologique de l'agence de la biomédecine, rendues en sous spécificités. Les typages effectués en biologie moléculaire ne sont pas utilisés pour l'attribution des greffons hormis les cas de greffes de cellules souches hématopoïétiques.

La recherche d'anticorps anti HLA en classe I et II est d'abord effectuée sur au moins deux sérums, à trois mois d'intervalle, une fois par lymphocytotoxicité sur un panel de cellules mononucléées représentatives de la population, déterminant ainsi le PRA ; mais également par technique sensible (cytométrie de flux, ELISA, Luminex ou micro-puces). Le PRA de type IgG anti lymphocyte T du sérum avec l'activité la plus élevée est saisi lors de l'inscription du patient, et mis à jour avec les sérums les plus récents.

En cas d'événement immunisant, le prélèvement d'un sérum s'impose entre J15 et J21 puis à J30 de l'évènement.

2. Suivi sur liste

Si le patient est connu non immunisé, un dépistage par technique sensible doit être effectué au moins tous les trois mois (maximum six mois), ainsi qu'une recherche annuelle d'anticorps d'isotype IgM en lymphocytotoxicité.

S'il est immunisé, les spécificités anti HLA de classe I et II doivent être identifiées tous les trois mois par technique sensible sans dépistage préalable obligatoire. Une recherche d'anticorps en lymphocytotoxicité est recommandée une fois par an avec recherche d'IgM et sur le sérum du pic d'immunisation pour déterminer le PRA.

E. Notions pratiques et définitions

1. Le panel reactive antibody

Le PRA est le pourcentage de réactivité du sérum du patient contre un panel d'antigène HLA. Il s'agit d'un outil qui n'est parfois pas représentatif de la fréquence des antigènes dans une population, entraînant une sous ou sur estimation de l'immunisation. Le calculated panel reactive antibody (cPRA) a été introduit aux Etats-Unis puis au Royaume Uni dans ce contexte. Il est basé sur le calcul des incompatibilités du receveur contre un panel de donneurs décédés récents, dépassant la variabilité entre laboratoires et meilleur reflet de l'accessibilité à un greffon.

2. Le taux de greffon incompatible

Le TGI calcule le taux de greffons en isogroupe proposés sur les 5 dernières années et envers lesquels le patient présentait une immunisation, sur la base des spécificités interdites HLA A, B, DR et DQ saisie dans CRISTAL.

3. Le score de « facilité d'accès à la greffe »

Le FAG est calculé à partir du nombre de donneurs potentiels dans la zone inter-région sur les 5 dernières années avec lequel le receveur a présenté au maximum 3 incompatibilités, en isogroupe sanguin. Ce score est recalculé toutes les nuits à partir de la base de données CRISTAL. Plus ce score est bas, plus le nombre de points accordés est important en cas de proposition d'un greffon compatible.

4. Score REIN

Depuis 1994, les règles de répartition et d'attribution des greffons rénaux sont confiées à l'agence de la biomédecine (ABM). Les receveurs sont classés selon un score d'attribution qui a pour objectif le respect des critères d'équité et d'efficacité. Le score REIN cumule la durée d'attente sur liste, la

difficulté d'accès à un greffon (FAG), l'appariement HLA en classe I et en DR, la différence d'âge et la distance séparant le donneur du receveur. Plus ce score est élevé, plus le patient a de chance de se voir proposer un greffon.

5. Antigène interdit

Classiquement, tout anticorps détecté, quelle que soit la technique, entraînait l'interdiction de l'antigène correspondant sans limite de temps. De même, les antigènes incompatibles d'un greffon antérieur et du procréateur pour les femmes ayant eu une grossesse étaient interdits. Plus récemment, l'ABM a proposé le retrait de l'interdiction d'un antigène si la MFI de ce dernier passait en dessous de 2000.

D'autre part, les techniques en « haute définition » ont permis d'identifier, dans les sérums des patients immunisés, des antigènes HLA qui n'entraînaient aucune réactivité. Ces antigènes sont à l'origine du programme « hyperimmunisé antigènes permis » (HAP).

6. Immunisation et hyperimmunisation

Un patient est considéré comme immunisé s'il présente un anticorps anti HLA et qu'au moins une spécificité HLA interdite en classe I et/ou en classe II est saisie dans CRISTAL, sous la responsabilité de l'équipe de greffe.

L'hyperimmunisation est définie par un TGI > 85%. Ce type d'immunisation survient souvent après un nouveau contact antigénique chez des patients déjà sensibilisés par une grossesse ou une transplantation. Cette situation peut être également expliquée par une immunisation contre des épitopes communs à plusieurs antigènes HLA ou par le phénomène d'antigène spreading.

Chez ces patients, il est important de déterminer les antigènes contre lesquels ils n'ont jamais développé d'immunisation dits « antigènes permis ».

F. La population immunisée en transplantation rénale

1. Caractéristiques démographiques

En France, la population immunisée représente environ 30% des patients sur liste d'attente de transplantation rénale. En 2015, les patients hyperimmunisés représentaient 13,3 % des nouveaux inscrits sur liste d'attente de greffe. La même année, 534 patients hyperimmunisés ont été greffés, représentant 15 % de l'activité de greffe en France.

Leur caractéristique principale, corolaire de l'immunisation, est un temps d'attente allongé du fait des spécificités HLA interdites. En France de 2008 à 2013, les patients immunisés ont attendu de façon médiane 37 mois contre 16 mois pour les patients non immunisés. Chez les patients hyperimmunisés, l'accès à la greffe est quasiment nul.

Aujourd'hui l'identification des spécificités HLA par technique sensible fait partie des recommandations, c'est la stratification du risque lié à la présence d'anticorps anti HLA, qui plus est DSA, qui pose question.

2. Conséquences cliniques

Les effets délétères de ces anticorps anti HLA, DSA ou pas, sont cependant bien illustrés. Nous allons schématiquement présenter les données concernant les anticorps anti HLA au sens large et dans un second temps celles concernant plus spécifiquement les DSA.

a) Non DSA

Il existe une certaine discordance dans les données de la littérature. En effet, il a été montré une corrélation entre le pourcentage du PRA et la survenue d'une non fonction primaire ou d'un rejet hyperaigu (2). En revanche, une étude plus récente incluant 537 transplantés n'a pas montré de

différence entre les pourcentages de cPRA en terme d'incidence de rejet cellulaire ou humoral, ni de survie du greffon (3).

Le mécanisme potentiellement mis en jeu dans ces phénomènes de rejet humoral sans véritable DSA est celui des cross reactive groups (CREGS). Il s'agit d'un groupe d'épitope partagé par plusieurs antigènes engendrant une réactivité « croisée » des anticorps anti HLA dirigés contre cet épitope.

b) DSA

Depuis les travaux de Terasaki en 1969, de nombreuses travaux ont confirmé le rôle prépondérant des anticorps anti HLA de type DSA présents avant la greffe dans le risque de rejet et de perte du greffon (4,5).

Lorsque ces anticorps anti HLA spécifiques du donneur apparaissent après la greffe, on parle de DSA *de novo*. Ils sont détectés en technique sensible chez 13 à 27 % des patients greffés non immunisés, en majorité pendant la première année suivant la greffe, la plupart en classe II. Leur présence est associée au rejet humoral aigu et chronique, à une dysfonction du greffon et une moins bonne survie du greffon (6). Une méta analyse d'études rétrospectives a montré que la présence de DSA augmentait de 2 à 4 fois le risque de rejet aigu humoral et de 70% celui de perte du greffon (7).

Un des espoirs en transplantation rénale serait de pouvoir prédire, de façon plus réaliste, l'impact d'un anticorps anti HLA, qui plus est DSA sur la survie du greffon. Nous abordons ici quelques caractéristiques qui semblent pouvoir démarquer la pathogénicité des DSA :

- Selon la technique de détection :

L'avènement des techniques sensibles à fait apparaître des situations nouvelles, complexifiant la question de l'immunisation. En effet, chez certains patients, la détection d'anticorps anti HLA n'est pas responsable d'un cross match positif en cytotoxicité (8,9). Plusieurs travaux rétrospectifs ont mis en

évidence qu'entre 10% et 20% des patients transplantés avec un cross match négatif en cytométrie de flux avaient des DSA avant la greffe, ainsi qu'une augmentation de non fonction primaire du greffon chez les patients greffés avec des cross matches positifs en cytométrie de flux mais négatifs en lymphocytotoxicité (2).

La littérature manque aujourd'hui d'études comparant les conséquences cliniques des anticorps anti HLA de type DSA identifiés selon différentes techniques. Ces DSA détectés en pré ou post greffe sont des biomarqueurs prédictifs de rejet aigu à médiation humorale ainsi que d'une moins bonne survie du greffon, avec des données parfois contradictoires selon les études (10–12).

- **Selon le titre**

Le titre est déterminé par la dilution à partir de laquelle l'anticorps n'est plus détecté. La dilution d'un sérum, particulièrement en cas de poly immunisation, permet de démasquer un effet pro-zone qui sous estimerait la MFI d'un DSA (13).

- **Selon la MFI**

Il n'existe pas de cut-off reconnu pour les MFI des anticorps détectés par les techniques en phase solide. Une étude a mis en évidence chez les patients avec des DSA dont la MFI est supérieure à 1000 un taux augmenté de rejet humoral aigu et chronique (14). Une autre étude souligne l'importance de la MFI des DSA sur les sérums historiques plutôt que les MFI du jour de la greffe (11).

Dans une étude rétrospective, Gloor *et al.* se sont intéressés aux risques de rejets aigus, chroniques et de perte du greffon chez les patients greffés avec donneurs vivants ayant un cross match positif. Chez 119 patients greffés après un protocole de désimmunisation, il existait une corrélation entre la MFI la plus élevée des DSA en pré greffe et le risque de rejet aigu humoral, de perte précoce et tardive du greffon (15). Cette même équipe a montré que le risque de rejet aigu humoral était corrélé à des MFI élevées de DSA en post greffe (16).

- **Selon le nombre**

Les études ne permettent pas de savoir si le nombre de DSA au moment de la greffe plutôt que la MFI ou le résultat du cross match a un impact supérieur en terme de survie du greffon (9).

- **Selon la classe I/II**

Dans une étude de Bentall *et al.* s'intéressant aux patients greffés avec donneurs vivants après un protocole de désimmunisation, la survie du greffon à 5 ans est moins bonne chez la population immunisée en classe II +/- en classe I comparée à la population immunisée uniquement en classe I (17).

- **Selon la sous-classe d'IgG**

Chaque sous classe a un rôle spécifique dans la réponse immune, avec une activation variable du complément. Il est maintenant possible de les identifier en single antigen. Les sous classes IgG1 et 3 sont les plus activatrices du complément, avec un rôle particulièrement délétère suspecté pour l'IgG3 (9,11).

- **Selon la fixation du complément**

L'activation du complément joue un rôle important dans la dysfonction chronique d'allogreffe, débutant par la liaison du C1q puis par le clivage du C3 en C3d. Des techniques étudiant la fixation des anticorps anti HLA au C1q ou C3d ont donc été développées, avec pour hypothèse que leurs positivité pourraient être le reflet d'une pathogénicité accrue des DSA. Des études ont montré que la fixation du complément des DSA en pré-greffe était corrélée au rejet humoral et à la perte du greffon. Guidicelli *et al.* ont montré que la présence de DSA *de novo* fixant le C1q était associée à une moins bonne survie du greffon (18). Il faut noter que la fixation du complément est également corrélée au titre et à la MFI des DSA. Il serait intéressant de comparer la pertinence clinique de ces techniques (9).

3. Les solutions proposées pour la population immunisée en transplantation rénale

L'accès à la greffe des patients immunisés s'est amélioré depuis plusieurs années, grâce à l'avènement du programme antigène permis et aux priorisations nationales. Les patients hyperimmunisés font l'objet d'une priorité nationale, avec dérogation O pour les groupes B et A pour les AB, s'il y a 0 ou 1 mismatch en A B DR. Il existe une dérogation O pour les receveurs AB seulement si le TGI est supérieur ou égal à 95%.

L'immunisation anti HLA permet l'accès à la priorité Immunisé Fullmatch (IFM) en cas de greffon ne présentant aucune incompatibilité HLA sur la base des spécificités publiques.

Le programme antigène permis, inspiré d'EuroTransplant, donne une priorité nationale à tout patient hyperimmunisé si toutes les incompatibilités HLA A, B et DR entre donneur et receveur correspondent à des antigènes HLA identifiés comme « permis » en « single antigen ». Cette méthode permet de prédire un cross match négatif dans 90 % des cas et d'augmenter le nombre de propositions.

Malgré tout, l'hyperimmunisation (définie par un TGI > 85%) constitue un lourd handicap en terme d'accès à la greffe. C'est dans ce contexte que le concept de « désimmunisation naturelle » ou les protocoles de « désimmunisation active » ont vu le jour.

G. Les protocoles de désimmunisation en transplantation rénale

1. Objectifs

Les protocoles de désimmunisation HLA ont pour but d'augmenter l'accès à la greffe de la population hyperimmunisée. Un protocole de désimmunisation peut être proposé dans les deux cas suivants, avec deux objectifs distincts :

- Diminuer la MFI d'un anticorps anti HLA afin de négativer le cross match avant une greffe donneur vivant.
- Diminuer les MFI des spécificités HLA pour augmenter le pool de donneurs décédés potentiels. Cela s'accompagne d'une baisse du TGI et donc souvent de la perte d'une priorité nationale.

L'ABM valide en amont le protocole de désimmunisation des équipes médicales. Elle accorde ensuite une priorisation inter-régionale dès que le traitement est efficace, pendant 4 mois. Dans le but de garantir l'équité dans la répartition des greffons, il existe un certain nombre de règles édictées par l'agence de la biomédecine quant à la réalisation de ces protocoles de désimmunisation telle que la limitation du nombre de candidats par an et par région, ou l'impossibilité de débiter une désimmunisation chez deux patients avec un même groupe sanguin dans une inter-région. C'est à ces patients que notre travail s'intéresse.

2. Thérapies utilisées

On peut schématiquement distinguer trois objectifs des molécules utilisées dans les protocoles de désimmunisation : empêcher la fabrication des anticorps, épurer ces anticorps et empêcher leur action délétère. La plupart de ces molécules sont utilisées « hors recommandations » dans les protocoles de désimmunisation. Nous allons passer en revue les plus communément utilisées en expliquant brièvement leur mode d'action. La littérature concernant les résultats des différents protocoles sera exposée dans la partie suivante.

a) Immunoglobulines polyvalentes

Les immunoglobulines polyvalentes (Ivlg) font partie du traitement de nombreuses maladies auto immunes, ainsi que de la prévention et traitement du rejet humoral en transplantation rénale (19).

Leurs mécanismes d'action, encore incomplètement élucidés, sont potentiellement multiples :

- La régulation de la production des anticorps par les lymphocytes B,
- L'inhibition de la prolifération des lymphocytes B et T,
- La neutralisation des allo anticorps par blocage anti idiotypique,
- L'interaction avec le récepteur FCgammalIB,
- La modulation de la synthèse des cytokines,
- La diminution de l'expression du CD19.

Elles peuvent être utilisées à faible dose à visée anti infectieuse (100 mg/kg) ou à forte dose à visée immuno-modulatrice (1 à 2 g/kg maximum 140 g), par voie intraveineuse. Il faut noter que leur utilisation interfère avec l'interprétation des techniques sensibles de suivi des anticorps anti HLA. Leur efficacité a été montrée dans une première étude contrôlée randomisée contre placebo. Dans ce travail de Jordan *et al.*, le protocole [4 cures d'Ivlg à 2g/kg à un mois d'intervalle] avant et après transplantation, a permis d'augmenter l'accès à la greffe de manière significative (31% versus 12%, $p < 0,05$), y compris pour les greffes avec donneurs décédés (20).

Avec le temps, il est apparu que les Ivlg seules étaient insuffisantes pour maintenir un taux bas d'allo-anticorps. De plus, leur utilisation était associée à un phénomène de rebond en post greffe et de rejet à médiation humorale.

b) Anti CD20

Le Rituximab est un anticorps monoclonal chimérique dirigé contre le CD20 exprimé à la surface des cellules B matures et immatures. Il est composé d'une région variable d'origine murine (Fab) associée à des fragments constants de chaîne lourde IgG1 humaine et chaîne légère kappa.

Une fois fixé sur à l'antigène CD20, il élimine les lymphocytes B par trois mécanismes :

- La reconnaissance par les macrophages aboutissant à la phagocytose et une toxicité cellulaire médiée par les anticorps (ADCC),
- L'interaction avec les cellules NK aboutissant à l'ADCC,
- La cytotoxicité médiée par le complément.

La posologie est de 375 mg/m^2 en perfusion intraveineuse, en débit progressivement croissant. Une diminution des lymphocytes B périphériques est obtenue dans les 1 à 3 jours suivants l'injection, la déplétion complète est obtenue en 1 à 6 semaines. Il n'a pas d'action sur les cellules plasmocytaires (21).

Son efficacité en association avec les Ivlg a été mise en évidence dans un travail de Vo et *al.* randomisé contre placebo. Cette étude a montré une diminution significative du taux d'anticorps anti HLA et un accès à la greffe de donneurs vivants ou décédés pour 80 % des patients de la série. Plus tard, Jackson et *al.* ont observé un rebond des anticorps anti HLA, DSA ou pas, moins important chez les patients traités par Rituximab le jour de la greffe alors même que ces patients avaient un PRA plus important (22).

c) Techniques d'aphérèse

L'aphérèse consiste en la séparation des différents constituants du compartiment sanguin. Elle comprend, entre autres, les techniques de plasmaphérèse qui vont séparer les éléments cellulaires du plasma, dans le but d'épurer ce dernier des molécules pathogènes.

Parmi elles, les échanges plasmatiques peuvent être réalisés par deux méthodes différentes : la filtration ou la centrifugation. Toutes deux nécessitent un liquide de substitution, avec de risques hémorragiques et infectieux non négligeables. Toutes les molécules plasmatiques sont éliminées dans une même proportion.

Depuis quelques années sont apparues les techniques d'aphérèse semi-sélective par immunoadsorption. Elles permettent de surseoir aux produits de substitutions et ont moins d'effets secondaires que les échanges plasmatiques. Le plasma est tout d'abord séparé des éléments sanguins par filtration ou centrifugation, puis passe par des colonnes recouvertes de motifs antigéniques particuliers, permettant d'y retenir les immunoglobulines. Le plasma est ensuite restitué au patient.

L'immunoadsorption utilisant la protéine A (Immunosorba) consiste en 2 colonnes qui lient les sous-classes IgG1,2 et 4 avec une haute affinité, alors que les IgG3, IgA et IgM sont fixées avec une affinité variable (comparable aux colonnes utilisant un peptide synthétique sur Globaffin).

Réutilisables, les colonnes Ig-Therasorb (Glycosorb) sont recouvertes d'anticorps ovins anti-immunoglobulines humaines qui vont fixer tous les sous-classes d'anticorps anti IgG avec une haute affinité et les IgM et IgA dans une moindre mesure (23).

Dans un travail de Bartel *et al.*, l'utilisation de séances d'immunoabsorption seules avant et après greffe a permis de négativer le cross match chez 21 patients avec un PRA > 40%, greffés avec donneurs en mort encéphalique (24).

d) Inhibiteur du protéasome

Le Bortezomib est la molécule classiquement utilisée. Approuvé en 2008 par la FDA dans le traitement de myélome multiple, il aboutit à l'apoptose des cellules plasmocytaires par le biais de l'inhibition du protéasome. Il est utilisé à la posologie de 1,3 mg/m² par voie intraveineuse.

Utilisé en association avec le Rituximab et les plasmaphérèses, Woodle *et al.* ont montré des résultats moyennement satisfaisants avec 19 greffes réalisées avec donneurs vivants parmi 44 patients avec un PRA ou cPRA>20% (25). Un autre travail de Moreno *et al.* met en relief la fréquence des effets secondaires sévères (4 sur 10 patients) (26).

Un travail fondamental chez le primate a montré que, si le Bortezomib était bien efficace sur la diminution des lymphocytes B et des plasmocytes périphériques, on notait en revanche une augmentation « compensatrice » des cellules B dans les centres germinaux (27).

e) Bloqueur du complément

L'Eculizumab est un anti C5, empêchant sa dégradation en C5a et C5b et la formation du complexe C5b9. Il est administré par voie intraveineuse une fois par semaine à la dose de 1200 mg puis 900 mg, au moins trois fois et à poursuivre selon la réponse clinique.

En 2011, Stegall *et al.* ont montré de façon rétrospective une survenue moindre de rejets aigus humoraux chez les patients greffés avec donneurs vivants bénéficiant du protocole [plasmaphérèse + Eculizumab] en comparaison avec [plasmaphérèse] (28). Il semble cependant insuffisant en monothérapie (19).

f) Immunosuppression associée

Les patients auxquels s'adressent les protocoles de désimmunisation sont à « haut risque immunologique », autrement dit à haut risque de rejet. L'induction comprend classiquement des thymoglobulines (sérum anti lymphocytaire de lapin) à 1-2 mg/kg/j pendant 4 jours dès le jour de la greffe. Les thymoglobulines ont montré leur supériorité par rapport au Daclizumab (anti CD25) en terme de prévention du rejet aigu à 1 an (29). En cas de contre-indication, un antagoniste des récepteurs à l'interleukine 2, le Basiliximab, est utilisé à la dose de 20 mg à J0 et J4. Une méta-analyse a permis de mettre en évidence l'efficacité des antagonistes des récepteurs à l'IL2 par rapport à un placebo, mais un risque plus important de lésions histologiques de rejet à 1 an par rapport à la thymoglobuline (30).

Il n'existe pas de recommandation sur l'immunosuppression après la transplantation d'un patient immunisé. Au long cours, elle consiste en une trithérapie comprenant un inhibiteur de la calcineurine (ICN), du mycophenolate mofetil (MMF) et des corticoïdes. Des résiduelles plutôt hautes seront visées pour les ICN, les corticoïdes seront poursuivis au long cours mais une diminution de leur posologie pourra être envisagée en fonction de l'évolution de la fonction du greffon après 6 mois de greffe.

3. Résultats

Nous commençons seulement à avoir un recul intéressant sur les protocoles de désimmunisation en transplantation rénale, ces pratiques s'étant démocratisées il y a un peu plus de dix ans. Malheureusement, les études menées sur ce sujet sont dans la grande majorité rétrospectives, les critères d'inclusions des patients immunisés variés, les protocoles de désimmunisation hétérogènes et les critères de jugements assez disparates. Cependant, leurs résultats méritent de l'attention si nous voulons faire progresser ces pratiques.

a) Efficacité immunologique, accès à la greffe et temps d'attente

Puisque les définitions de l'immunisation varient selon les études, de même que les techniques de

détection utilisées, il est délicat d'émettre des conclusions sur des critères immunologiques stricts.

Les Ivlg haute dose ont montré leur efficacité sur la diminution du PRA et l'amélioration de l'accès à la greffe (30). Ces résultats ont été confirmés dans une étude prospective randomisée contre placebo incluant 15 patients avec un PRA initial > 50%, greffés avec donneurs vivants ou décédés. Le groupe [Ivlg] avait un temps d'attente moins long (4.8 ans *versus* 10.3 ans) ainsi qu'une diminution significative du PRA (20).

Au fil du temps, le Rituximab a été incorporé dans les protocoles de désimmunisation. Le protocole [Rituximab + Ivlg] a permis chez 20 patients une diminution du PRA de 77% à 44 %, une diminution du temps d'attente de 144 à 5 mois, un accès à la greffe pour 80% des patients avec donneurs vivants ou en mort encéphalique (33). Une autre étude menée par la même équipe a retrouvé, chez 76 patients hyperimmunisés (PRA > 80%) dont 45 greffés avec donneurs décédés, un temps d'attente moyen de 4 mois après le protocole (26). Les conclusions d'une étude de Marfo *et al.* viennent contrebalancer ces résultats encourageants. En effet, elles ne trouvent pas d'amélioration significative du cPRA ni de l'accès à la greffe après un protocole [Ivlg + Rituximab] chez des patients avec cPRA > 50% (34).

Le Bortezomib seul paraît avoir une efficacité limitée sur la diminution du cPRA (26). En association avec [Ivlg + Rituximab], la diminution du cPRA n'apparaît pas non plus significative, de plus on assiste à un phénomène de rebond des anticorps anti HLA (35).

Le premier travail de Gloor *et al.* a montré que le protocole [Rituximab + plasmaphérèse + Ivlg + splénectomie] permettait l'accès à la greffe chez 14 patients avec donneurs vivants avec une survie du greffon de près de 80% à 14 mois (36). Par ailleurs, le protocole [Rituximab + Ivlg + plasmaphérèse] permettait une diminution significative du rebond des anticorps anti HLA, DSA ou pas, par rapport au protocole [Ivlg + plasmaphérèse] (22).

b) Survie du patient

Les travaux prospectifs les plus importants se sont intéressés à la désimmunisation dans le cas de greffes avec donneurs vivants, leur interprétation nécessite donc une certaine prudence.

Jusqu'à récemment, deux études solides avaient montré un bénéfice statistiquement significatif en terme de survie chez ces patients greffés après un protocole de désimmunisation. En effet, une première étude prospective monocentrique incluant 215 patients avec une PRA moyen égal à 80% désimmunisés par [plasmaphérèse + Ivlg] comparés à un groupe de patients sur liste greffés ou dialysés

et un groupe de patients dialysés montrait une meilleure survie des patients désimmunisés après la première année de greffe, et ce jusqu'à 8 ans de suivi (respectivement 81%, 49%, 31% ; $p < 0,01$) (37).

Orandi *et al.* confirmaient ce résultat, toujours avec des donneurs vivants, chez 1025 patients avec à 8 ans une survie égale à 86 % dans le groupe désimmunisé, contre 74% et 59 % dans les groupes greffés/sur liste d'attente et hémodialysés ($p < 0,01$) (38).

En 2017, le travail de Manook *et al.* bousculait ce dogme. Cette étude anglaise prospective incluant 213 patients désimmunisés et greffés avec donneurs vivants ne mettait pas en évidence d'amélioration de la survie à 7 ans par rapport aux patients greffés d'un donneur en mort encéphalique ou sur liste (39).

c) Episodes de rejet et survie du greffon

Ces patients greffés après un protocole de désimmunisation doivent être considérés à haut risque de rejet à médiation humorale, raison pour laquelle des biopsies programmées doivent être réalisées et ce malgré l'absence de point d'appel clinique. Nous manquons aujourd'hui de données sur la survie du greffon à long terme après désimmunisation. Par ailleurs, les résultats sont difficilement extrapolables du fait de l'absence de critères d'inclusion homogènes, en voici quelques résultats.

La survie du greffon à 2 ans chez des patients (PRA > 50%) désimmunisés par [Ivlg] apparaît similaire au groupe placebo, respectivement 80% et 75% (20). Le protocole de désimmunisation [Ivlg+ Rituximab] est marqué par 50% de rejet pour la plupart d'évolution favorable, avec une créatininémie médiane égale à 1,5mg/dl et 94% de survie du greffon à 1 an (33). Le protocole [Rituximab + plasmaphérèse + Ivlg + splénectomie] dans l'étude prospective de Gloor *et al.* s'est soldé par 43% de rejets humoraux, corrélé au titre de DSA en pré greffe. La réalisation de séances d'immunoabsorption seules chez 68 patients avec un (PRA > 40%) a permis une survie du greffon de 63% à 5 ans, avec 15% à 30% de rejets humoraux ou cellulaires (24).

d) Synthèse

Les résultats de ces études se sont montrés assez encourageants pour les cliniciens. En collaboration avec l'agence de la biomédecine, les néphrologues français se sont efforcés d'homogénéiser les critères d'inclusions des patients, ainsi que les protocoles utilisés. Nous manquons à ce jour d'une évaluation de ces pratiques en France : ces patients sont-ils effectivement greffés ? Quelle est l'efficacité immunologique de ces protocoles ? Quelle est la survie du greffon ? Comment les patients vivent-ils ces protocoles ? C'est à ces questions que notre travail va tenter d'apporter des réponses.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODE

A. Type d'étude

Il s'agit d'une étude de cohorte rétrospective incluant les patients hyperimmunisés qui ont bénéficié d'un protocole de désimmunisation ayant permis l'accès à la greffe, entre 2013 et 2016. Ces patients étaient issus de deux centres : le CHU de Rouen et le CHRU de Lille.

B. Receveurs

Selon les recommandations de l'agence de la biomédecine, les critères d'inclusion d'un patient dans un protocole de désimmunisation et de priorisation inter-régionale étaient les suivants :

- Age \leq 60ans
- TGI supérieur ou égal à 95%
- Au niveau régional, FAG inférieur ou égal au 10 percentile
- Durée d'attente sur liste > 3 ans
- Fistule artério veineuse fonctionnelle
- Absence de contre indication médicale ou chirurgicale à la greffe
- Obtention d'un consentement éclairé
- Données immunologiques validées par l'Agence de la Biomédecine avant la priorisation inter région

Les critères d'exclusion étaient les suivants :

- Infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), le virus de l'hépatite B (VHB), le virus de l'hépatite C (VHC)
- Infection non contrôlée
- Néoplasie
- Difficulté chirurgicale
- Incapacité à donner un consentement éclairé

L'accord de l'Agence de la Biomédecine était obtenu après la transmission des données suivantes : dossier clinique du patient, spécificités immunologiques du dernier sérum, accord des trois CHU de l'inter région, consentement éclairé du patient.

C. Donneurs

Les greffons proposés étaient issus de donneurs en mort encéphalique âgés au plus de 70 ans, avec exclusion des autres critères élargis.

D. Protocoles de désimmunisation

La durée de ces protocoles est fixée à 4 mois maximum par l'agence de la biomédecine, avec un nombre limité de patients par inter région.

- A Lille
 - Séances d'immunoabsorption dépendante des anticorps traitant 1,6 fois le volume plasmatique, trois fois par semaine, couplée à une anticoagulation au citrate.
 - Immunoglobulines polyvalentes par voie intraveineuse : Clairyg à la dose de 100 mg/kg à la fin de chaque séance d'immunoabsorption.
 - Poursuite des séances d'hémodialyse trois fois par semaine couplée aux séances d'immunoabsorption.
 - Traitement immunosuppresseur débuté dès le début de l'immunoabsorption :
 - Tacrolimus (Prograf, Astellas Pharma) à la posologie de 0,15 mg/kg/j en 2 prises par jour,
 - Mycophenolate Mofetil (Myfortic, Novartis Pharma) à la posologie de 540 mg 2 fois par jour,

- Traitement d'induction : immunoglobulines de lapin anti-thymocytes humains (Thymoglobuline, Sanofi-aventis) à la dose de 1,25 mg/kg/j pendant 4 jours.
- Traitement immunosuppresseur après la greffe :
 - Tacrolimus (Prograf, Astellas Pharma) à la posologie de 0,15 mg/kg/j en 2 prises par jour,
 - Mycophenolate Mofetil (Myfortic, Novartis Pharma) à la posologie de 540 mg 2 fois par jour,
 - Methylprednisolone (Solumedrol, Pfizer) bolus de 500mg à JO, 250 mg à J1 puis prednisolone (Solupred, Sanofi-aventis) à la posologie de 20 mg/jour.

Le matériel utilisé était :

- En immunoadsorption : machine « Life-18 apheresis unit » Miltenyj Biotec et les colonnes « Therasorb-Ig flex adsorber » Miltenyj Biotec,
- En hémodialyse : générateur type « AK200 » ou « Fresenius 5008 » Fresenius Medical Care.

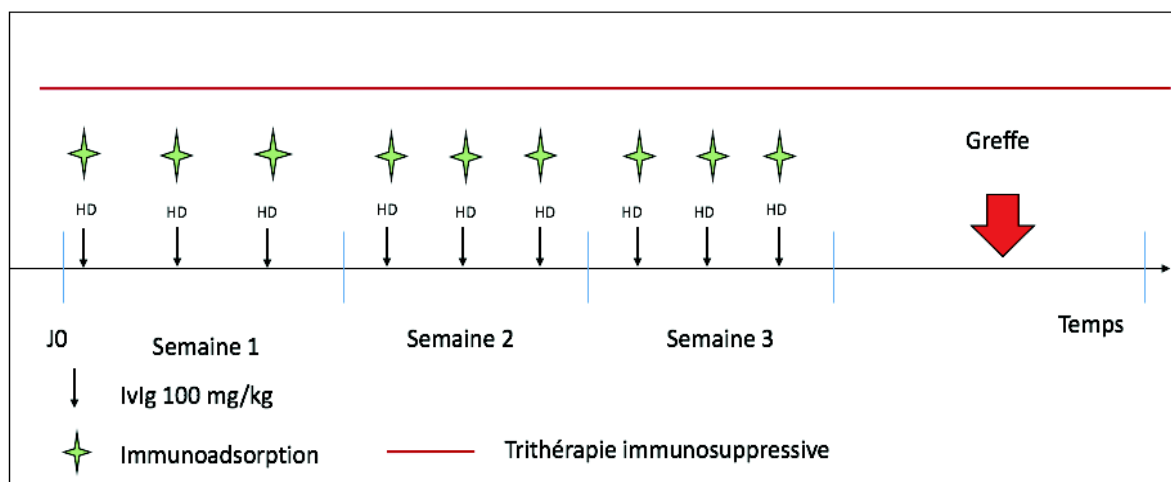


Figure n° 1 : Protocole de désimmunisation Lillois

- A Rouen

- Séances d'immunoabsorption traitant 2 à 2,5 le volume plasmatique, cinq fois par semaine les deux premières semaines puis trois fois par semaine à partir de la troisième semaine, couplée à une anticoagulation au citrate.
- Hémodialyse quotidienne les deux premières semaines puis hémodialyse trois fois par semaine à partir de la troisième semaine, les jours sans immunoabsorption.
- Traitement immunosuppresseur débuté dès le début de l'immunoabsorption :
 - Tacrolimus (Prograf, Astellas Pharma) à la posologie de 0.1 mg/kg/jour en 2 prises,
 - Mycophénolate mofetil (Cellcept, Roche) à la posologie de 2 g par jour en 2 prises,
 - Prednisone (Cortancyl, Sanofi-aventis) à la posologie de 20 mg/jour.
- Rituximab (Mabthera, Roche) à la dose de 375 mg/m² le jour de la greffe et à J7 de la greffe.
- Traitement d'induction : immunoglobulines de lapin anti-thymocytes humains (Thymoglobuline, Sanofi-aventis) à la dose de 1,25 mg/kg/j pendant 4 jours.
- Traitement immunosuppresseur après la greffe :
 - Tacrolimus (Prograf, Astellas Pharma) à la posologie de 0.1 mg/kg/jour en 2 prises,
 - Mycophénolate mofetil (Cellcept, Roche) à la posologie de 2 g par jour en 2 prises,
 - Methylprednisolone (Solumedrol, Pfizer) bolus de 500 mg à JO, 250 mg à J1 puis prednisone (Cortancyl, Sanofi-aventis) à la posologie de 20 mg/jour.

Le matériel utilisé était :

- En immunoabsorption : machine « Art Universal », moniteur d'adsorption « Adasorb » et adsorbants « Immunosorba » Fresenius Medical Care,
- En hémodialyse : générateur « Fresenius 5008 » Fresenius Medical Care.

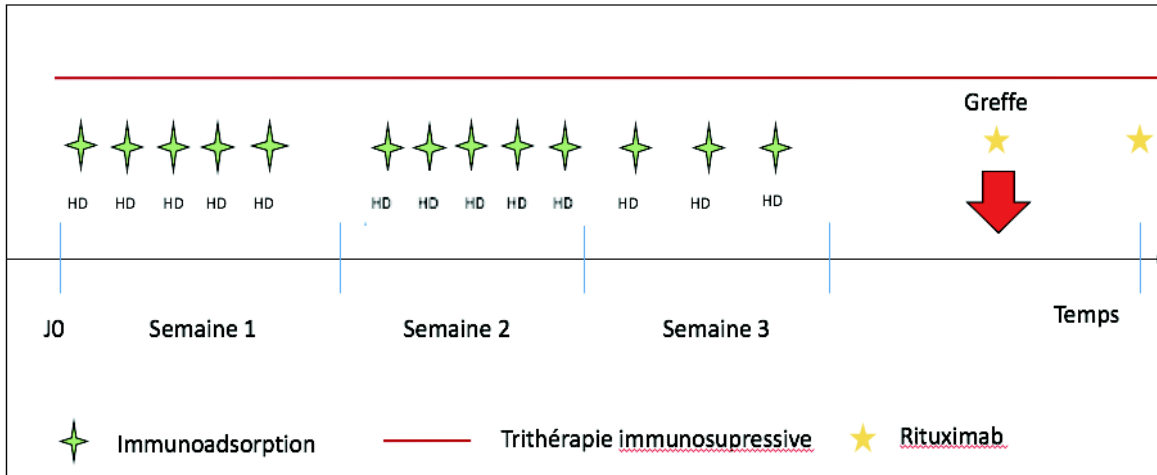


Figure n°2 : Protocole de désimmunisation Rouennais

- Particularités
 - A Lille, seule la patiente n°1 a reçu une injection de Rituximab 375 mg/m² au début du protocole.
 - La patiente n°1 a débuté une immunosuppression PO à J0 de greffe et non dès le début du protocole de désimmunisation.
- Prophylaxie anti infectieuse

Tous les patients recevaient une prophylaxie anti-pneumocystose par Triméthoprime/ Sulfaméthoxazole (Bactrim, Roche), à une posologie adaptée à la fonction du greffon jusqu'à six mois après la greffe. Les patients présentant un couple à risque pour le CMV recevaient du Valganciclovir (Rovalcyte, Roche) à la posologie de 450mg 2 fois par jour.

- Protocole Marrakech

Le traitement du rejet à médiation humorale consistait à Lille en :

- Séances de plasmaphérèse trois fois par semaine,
- Bolus de Solumedrol 500 mg par voie intraveineuse de J0 à J2,
- Ivlg 0,1g/kg/séance de plasmaphérèse puis 1g/kg/j à J12 et J13.

E. Surveillance et accès à la greffe

- Avant et pendant le protocole

Avant le protocole, les anticorps anti HLA étaient dépistés par Luminex puis les spécificités étaient identifiées en single antigen.

Après une semaine de traitement, un dépistage par Luminex déterminait une fluorescence globale.

A la fin de chaque semaine, une identification des anticorps anti HLA par single antigen Luminex était effectuée.

- Efficacité et tolérance

La désimmunisation était considérée efficace lorsque la MFI d'un d'anticorps anti HLA devenait inférieure à 3000.

La performance de l'immunoabsorption était évaluée par le dosage pondérale des immunoglobulines et des sous classes d'IgG avant et après chaque séance d'immunoabsorption.

Concernant la tolérance, des dosages du fibrinogène, du facteur VIII +/- AT3, du lipidogramme et de l'albumine étaient effectués une fois par semaine avant et après la séance d'immunoabsorption.

- Le jour de la greffe

Un cross match en lymphocytotoxicité B et T était effectué sur le sérum de jour, le sérum du J0 de la désimmunisation, le sérum du dernier jour de désimmunisation. Un cross match négatif en lymphocytotoxicité B et T avec le sérum du jour de l'appel autorisait la greffe.

Un cross match en cytométrie de flux était également réalisé dès que possible en jour ouvrable, avec les mêmes sérums. Les résultats étaient reçus a posteriori et ne conditionnaient pas la réalisation de la greffe.

- Après la greffe

La recherche d'anticorps anti HLA en Luminex « single antigen » était effectuée une fois par semaine pendant deux semaines puis à M1, M3, M6, M12 puis tous les ans minimums ou avant si suspicion ou traitement de rejet.

Après la greffe, une ponction biopsie du greffon était réalisée de façon systématique à J7 et M3 à Lille, à M3 et M12 à Rouen, ou avant pour cause dans les deux centres.

- Interprétation des résultats

Avant le protocole, tout anticorps anti HLA dépisté dont la MFI était supérieure à 1000 était interdit. Les antigènes des greffons antérieurs étaient interdits. Une MFI [500-1000] correspondait à la zone grise, l'interdiction de l'anticorps était alors discutée au cas par cas.

Pendant le protocole, quand la MFI d'un anticorps devenait < 3000, un retrait de la spécificité de cet anticorps sur Cristal était effectué. Le FAG et le TGI étaient alors recalculés de façon parallèle à l'instauration d'une priorité régionale ou inter-régionale pour le patient.

F. Données recueillies

- Clinico-biologiques

Avant la greffe, nous avons recueilli les données démographiques suivantes : âge au moment du protocole, néphropathie initiale, antécédents médicaux principaux, source(s) présumée(s) de l'immunisation, nombre de greffes antérieures, groupe sanguin, typage HLA des greffons antérieurs, typage HLA du patient, anticorps anti HLA, MFI des anticorps anti HLA avant et après le protocole, TGI avant le protocole, événement notable durant le protocole.

Après la greffe, les données recueillies étaient : âge et cause du décès du donneur, typage HLA du donneur, nombre de mismatches HLA, reprise de fonction du greffon, épisode de rejet aigu, rejet chronique, infections ; à la date du dernier suivi : statut décédé/vivant du patient, survie du greffon, créatininémie.

Les données cliniques et biologiques ont été recueillies grâce aux dossiers médicaux papiers et informatiques.

- Immunologiques

Les données immunologiques ont été transmises par le laboratoire HLA de chaque centre.

- Questionnaire

Par ailleurs, nous avons demandé à chaque patient de répondre de manière déclarative à la question « Comment avez-vous vécu le protocole de désimmunisation ? » puis par « oui » ou « non » à la question « Si votre néphrologue vous re-proposait un protocole de désimmunisation pour accéder à la greffe, accepteriez-vous ? ».

III. RESULTATS

Nous avons colligé 10 patients, les patients 1 à 7 inclus étaient issus du CHR de Lille, les patients 8 à 10 étaient issus du CHU de Rouen. Nous développerons d'abord une observation pour chaque patient puis nous attacherons à faire une synthèse des données démographiques et immunologiques, ainsi que de l'évolution de la greffe. A titre d'information et dans un souci de clarté, les anticorps colorés en rouge correspondent aux spécificités dirigées contre le donneur.

A. Données par patient

1. Patient n°1

a) Données démographiques

La patiente n°1 est une femme de 59 ans. Ses antécédents sont marqués par une insuffisance rénale chronique terminale dans un contexte de pathologie vésicale mal étiquetée traitée par auto-sondages, en hémodialyse depuis 1999. Elle a été transfusée à plusieurs reprises, a 2 enfants.

Elle est inscrite sur liste depuis janvier 2012.

b) Données immunologiques

- Patient

La patiente est de groupe A, son typage HLA est le suivant A1 A24 B8 B39 DR16 DR9 DQ5 DQ3. Avant la greffe, son TGI était égal à 100%, son FAG à 2.

- Donneur(s)

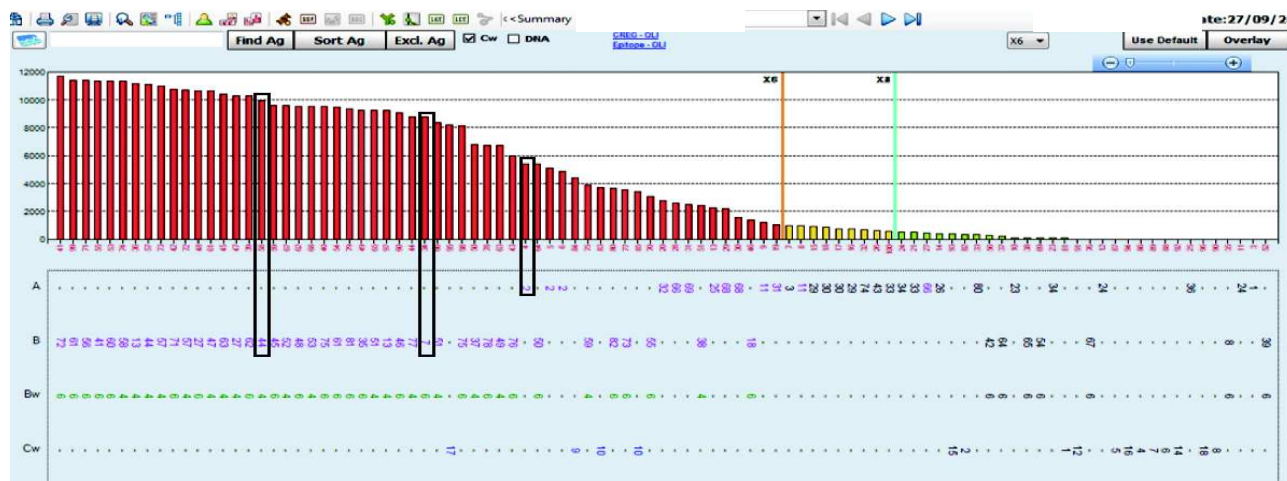
1^{ière} greffe (18/12/2012) : A2 A3 B7 B44 DR95 DR4 DQ5 DQ3

- Avant le protocole

Avant le protocole, les spécificités anti HLA identifiées étaient les suivantes :

En classe I :

- **MFI>10000** : B72 B61 B56 B41 B60 B58 B13 B44 B57 B71 B27 B57 B63 B62
- **3000<MFI<10000** : B44 B45 B52 B48 B53 B75 B61 B81 B35 B51 B13 B46 B77 B7 B51 B75 B37 B78 B49 Cw17 A2 B76 B50 B59 B82 B73 B55 Cw9 Cw10
- **1000<MFI<3000**: B55 A32 A66 A69 B38 A25 A68 A11 B38 B18



Les antigènes A36 B67 faisaient partie des antigènes permis.

En classe II :

Il n'existait aucune spécificité identifiée.

c) Déroulement du protocole

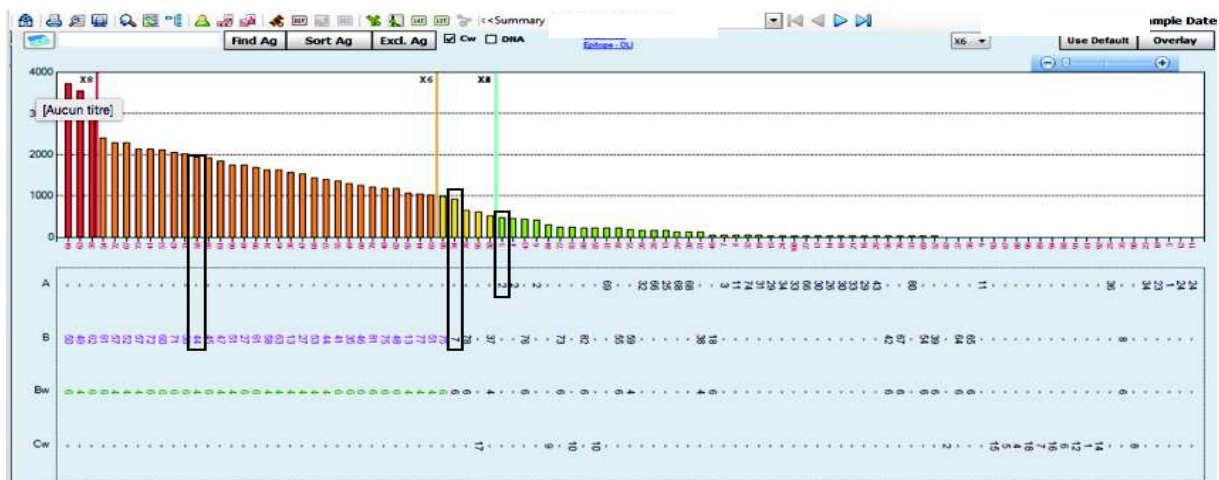
La patiente a reçu en juin 2012 un premier protocole de désimmunisation avec 10 séances d'immunoabsorption sans qu'il permette d'aboutir à une greffe. Un deuxième protocole de désimmunisation est débuté le 01/10/2012, sans événement infectieux notable.

d) Efficacité du protocole

- Globale

En classe I :

- **MFI>3000**: B62 B49 B50
- **1000<MFI<3000** : B13 B27 B35 B41 B44 B45 B46 B47 B48 B51 B52 B53 B56 B57 B58 B60 B61 B63 B71 B72 B75 B77 B81



- Accès à la greffe

Avant le protocole, 3 futurs DSA étaient identifiés en classe I : anti A2, anti B44 et anti B7. Ici, c'est le protocole de désimmunisation qui a permis l'épuration de ces anticorps et donc l'accès à la greffe.

DSA	MFI début protocole	MFI fin protocole	Décroissance (%)
A2	5500	500	91
B44	11000	1950	82
B7	8500	950	89

e) Déroulement de la greffe

La greffe a été réalisée le 18/12/2012, soit à J77 du début du protocole, avec un greffon issu d'un donneur de 28 ans, décédé de cause non vasculaire. Il existait 4 mismatches en classe I et 2 mismatches en classe II.

f) Evolution

La reprise de fonction est immédiate (créatinémie 20 mg/l à J6). L'évolution est marquée à J7 par un rejet aigu à médiation humorale traité par 3 bolus de corticoïdes, 6 échanges plasmatiques et Ivlg. La ponction biopsie du greffon montre des lésions g0 i0 t0 v0 ptc1 mm0 cg0 ci0 ct0 cv0 ah0 c4d3 selon Banff.

Au moment du rejet, on note une ré-ascension de la MFI des DSA anti B44, anti B7, anti A2 respectivement à 9500, 9200, 7000 ; et l'apparition d'un anti A3 avec une MFI à 1200.

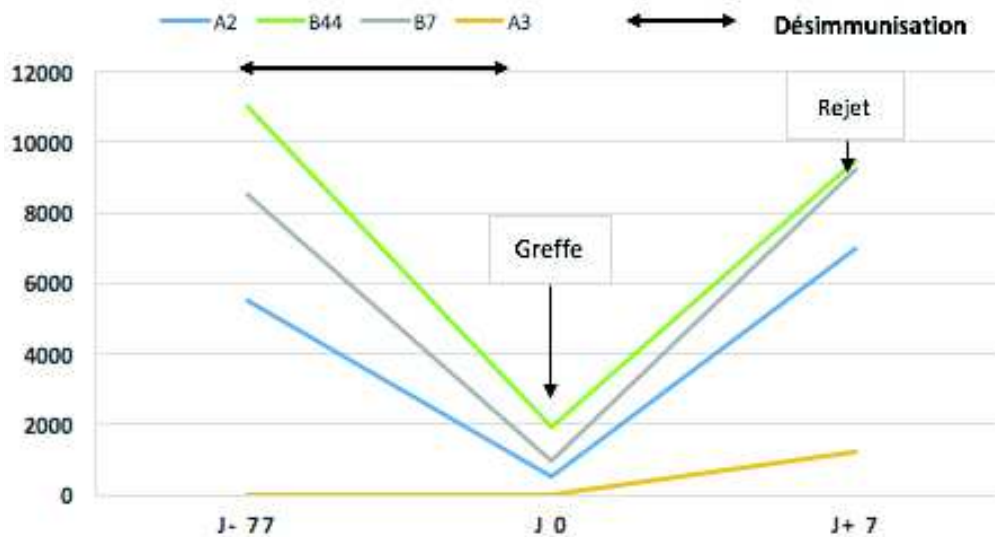


Figure n°1 (en abscisse le temps et en ordonnée la MFI) : Cinétique des MFI au début du protocole, au moment de la greffe et au moment du rejet.

Les suites sont défavorables avec une absence de récupération de fonction du greffon et un épisode de bactériémie à *enterocoque* à point de départ d'une pyélonéphrite du greffon.

La patiente bénéficie d'une transplantectomie le 15/02/2013, après son retour en hémodialyse en janvier 2013.

Elle est à nouveau sur liste d'attente depuis juin 2015, son TGI est égal à 99%. Son âge ne permet pas de proposer un nouveau protocole de désimmunisation.

2. Patient n°2

a) Données démographiques

Le patient n°2 est un homme de 59 ans. Ses antécédents sont marqués par une insuffisance rénale chronique dans un contexte de néphropathie de reflux nécessitant une prise en charge en hémodialyse en 1985. Une première transplantation rénale est réalisée en 1987, marquée par un rejet aigu puis d'un retour en hémodialyse la même année. Une deuxième greffe est réalisée en 1995 marquée par une dysfonction chronique du greffon et un reflux vésico-urétéral, avec reprise de l'hémodialyse en 2000. Il a bénéficié de deux transplantectomies.

Il est à nouveau inscrit sur liste depuis 2003.

b) Données immunologiques

- Patient

Il est de groupe AB, son typage HLA est le suivant : A1 A2 B65 B61 DR1 DR16 DQ5 DP2 DP10. Avant la greffe, son TGI était de 100% et son FAG égal à 0.

- Donneur(s)

- 1^{ière} greffe (05/06/1987): A2 A192 B13 B39 DR7

- 2^{ème} greffe (27/06/1995): A1 A2 B8 B14 DR1 DR15 DQ5 DQ6

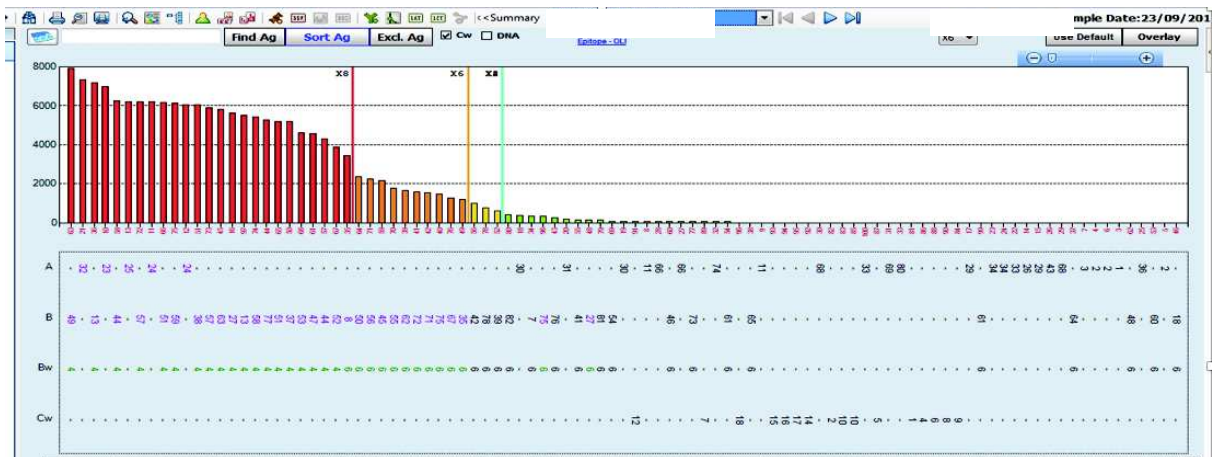
- 3^{ème} greffe (17/11/2013): A2 B39 B61 DR8 DR10 DQ4 DQ5

- Avant le protocole

Avant de débiter le protocole, il existait une immunisation dirigée contre les antigènes suivants,

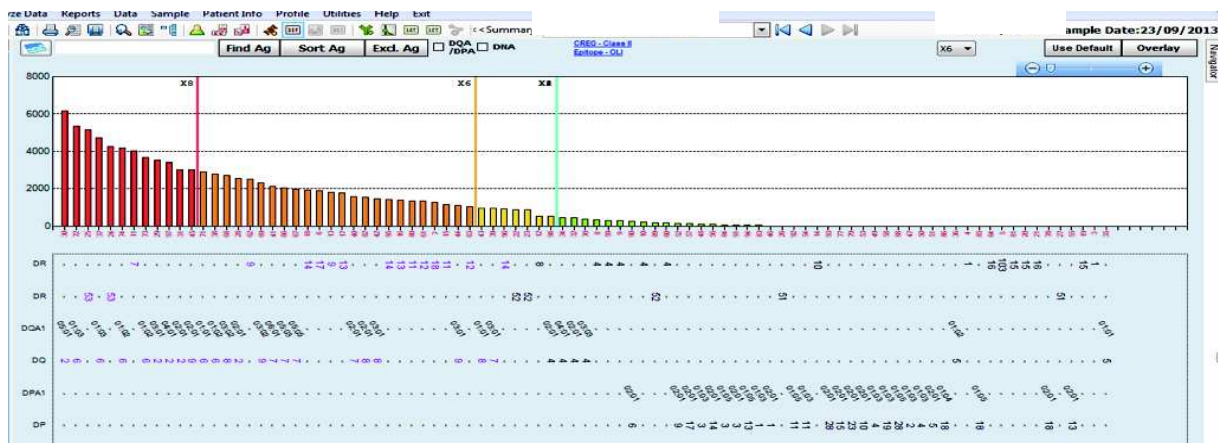
En classe I :

- **3000<MFI<10000**: A23 A24 A25 A32 B8 B13 B27 B37 B38 B44 B47 B49 B51 B52 B53 B57 B58 B59 B63 B77
- **1000<MFI<3000**: B35 B45 B50 B55 B56 B62 B67 B71 B72 B75



En classe II :

- **MFI>3000**: DR7 DR53 DQ2 DQ6 DQ9
- **1000<MFI<3000**: DR9 DR11 DR12 DR13 DR14 DR17 DR18 DQ7 DQ8



Les antigènes A3 A11 A26 A28 A29 A30 A31 A32 A33 A34 A36 A43 A66 A68 A69 A74 A80 B7 B18 B41 B46 B48 B54 B60 B40 B64 B14 B73 B76 B81 B82 DR4 DR10 DR15 DR2 DR103 font partie des antigènes permis.

c) Déroulement du protocole

Il a débuté le 23 septembre 2013, marqué par plusieurs épisodes de sinusites.

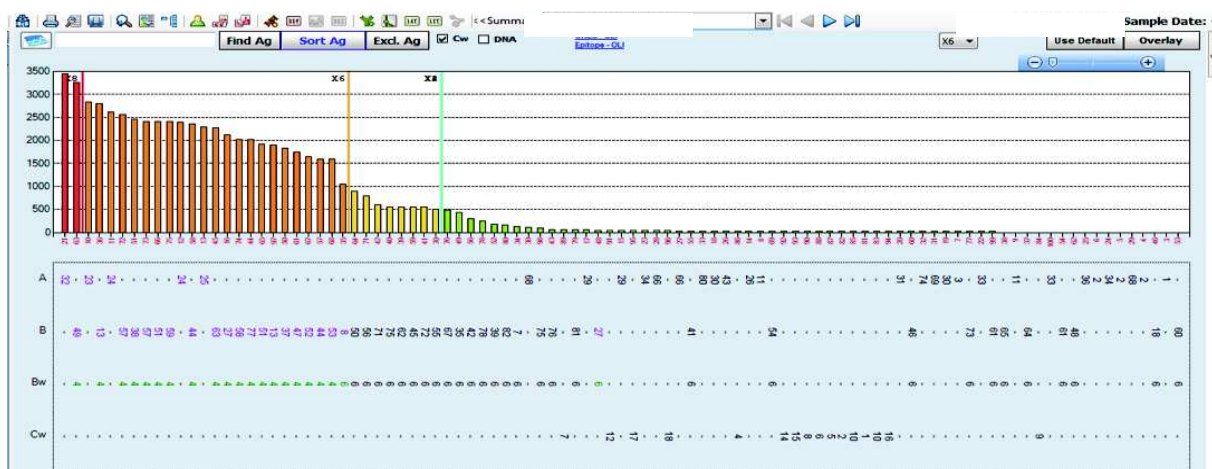
d) Efficacité du protocole

- Globale

Le jour de la greffe, les spécificités anti HLA étaient les suivantes,

En classe I :

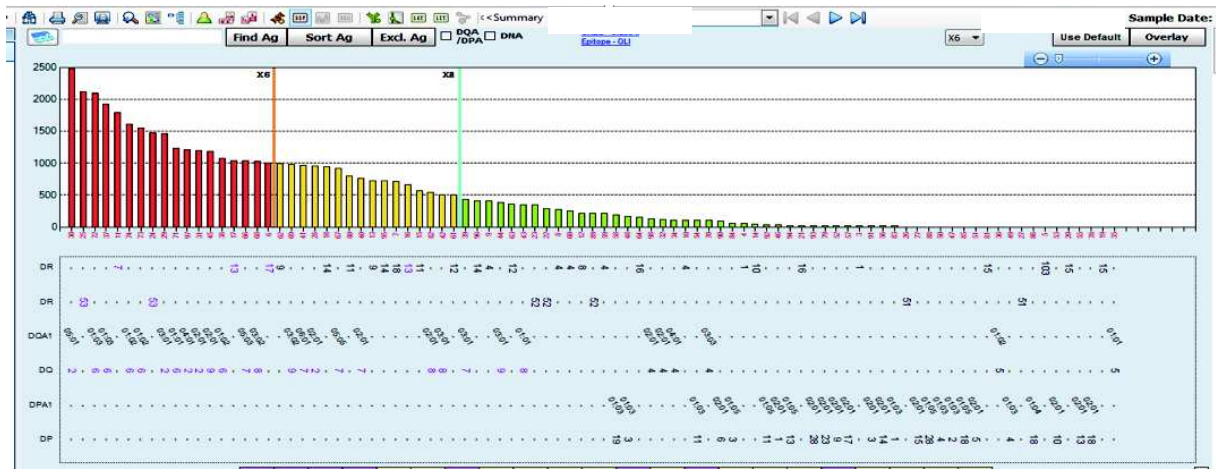
- **MFI>3000** : A32 B49
- **1000<MFI<3000**: A23 A24 A25 B8 B13 B27 B37 B38 B44 B47 B51 B52 B53 B57 B58 B59 B63 B77 DR7 DR13 DR17 DQ2 DQ6 DQ7 DQ8 DQ9



En classe II :

Tous les anticorps de classe II avaient une MFI inférieure à 3000.

- **1000<MFI<3000** : DR7 DR53 DQ2 DQ6 DQ7 DQ9 DQA1*01 DQA1*02 DQA1*03 DQA1*04 DQA1*05



- Accès à la greffe

Avant la désimmunisation, les anticorps anti HLA type DSA B39 DR8 DR10 DQ4 avaient déjà des MFI < 3000. L'anticorps anti HLA B39 était interdit du fait du partage de sa spécificité avec un greffon antérieur.

Ici, c'est ne sont pas les techniques d'aphérèse qui ont permis l'accès à la greffe.

e) Déroulement de la greffe

La greffe a été réalisée le 17/11/2013 soit à J56 du début du protocole, avec un greffon issu d'un donneur de 56 ans décédé de cause vasculaire. Il existait 2 mismatches en classe I et 2 mismatches en classe II.

f) Evolution

La reprise de fonction du greffon est immédiate (créatinémie égale à 24 mg/l à J5), sans argument pour un rejet à la biopsie de J7. L'évolution sera ensuite défavorable avec un épisode de rejet aigu à

médiation humorale à J21 (lésions g2 i1 t2 v0 ptc2 mm0cg0 ci1 ct1 cv2 ah1 c4d3 selon Banff) traité selon le protocole Marrakech, suivi d'un rejet humoral chronique à la biopsie de janvier 2015.

Au moment du rejet, il est observé une ré-ascension des MFI des DSA anti B39, DR8 et DQ4, et une apparition du DSA anti DR10.

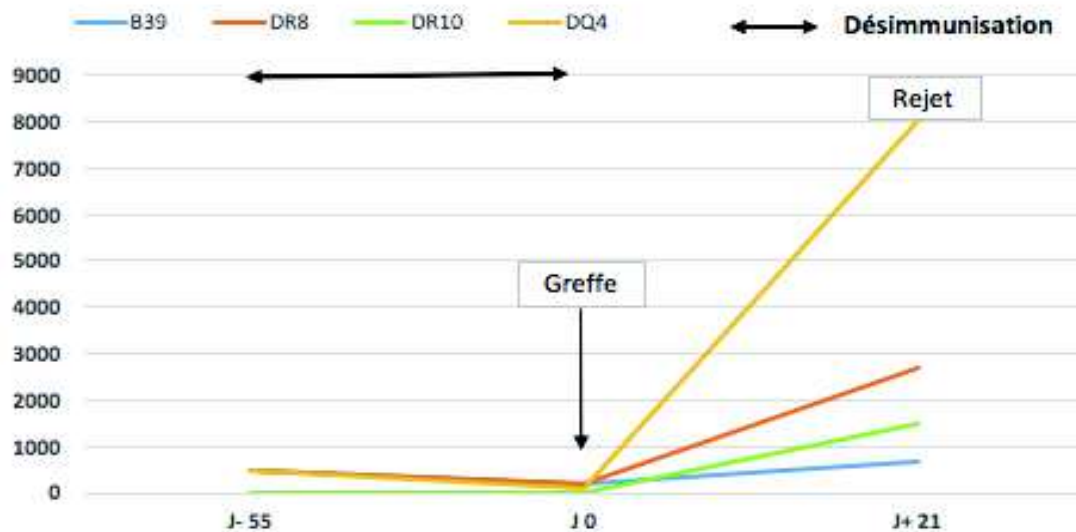


Figure n°2 (en abscisse le temps et en ordonnée la MFI) : Cinétique des MFI au début du protocole, au moment de la greffe et au moment du rejet.

Le patient retourne en hémodialyse en avril 2016 et bénéficie d'une transplantectomie la même année.

3. Patient n°3

a) Données démographiques

Le patient n°3 est homme de 47 ans, hémodialysé de février 1998 à février 1999 dans la cadre de l'évolution défavorable d'une glomérulonéphrite membrano-proliférative de type II associé à une lipodystrophie de Barraquer Simons avec C3 NeF.

Il a bénéficié d'une première transplantation rénale en juin 1999 évoluant vers une glomérulopathie d'allogreffe et un retour en dialyse en décembre 2008. Une transplantectomie a été réalisée le 5 février 2010.

Il est à nouveau inscrit sur liste depuis octobre 2008.

b) Données immunologiques

- **Patient**

Il est de groupe 0. Son typage HLA est le suivant : A1 A24 B57 B61 DR11 DR14 DQ3 DQ5. Avant la deuxième greffe, son TGI était à 99% et son FAG à 0.

- **Donneur(s)**

- 1^{ière} greffe (14/06/1999): A1 A29 B8 B39 DR16 DR12
- 2^{ième} greffe (18/12/2014): A2 B44 B62 Cw3 Cw5 DR1 DR13 DQ5 DQ6 DP4 DP10

- **Avant le protocole**

Les spécificités anti HLA identifiées étaient les suivantes,

En classe I :

- **MFI>10000** : A29 A43
- **3000<MFI<5000** : A30 B46
- **1000<MFI<3000**: A68 A31 A32 A33 A74 B8 B73 B67 Cw7

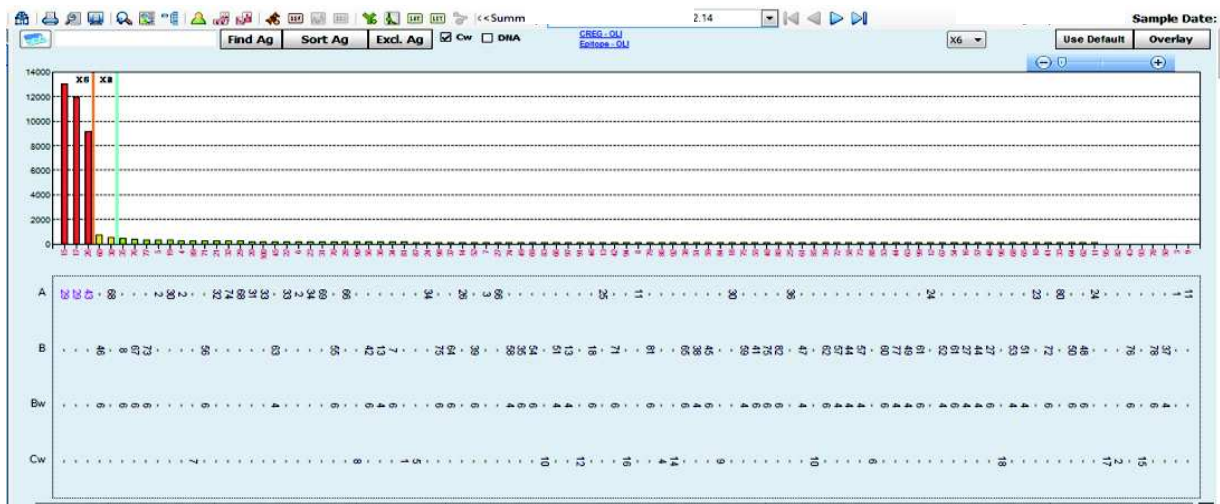
d) Efficacité du protocole

- Globale

A J17 du début du protocole, les spécificités anti HLA étaient les suivantes,

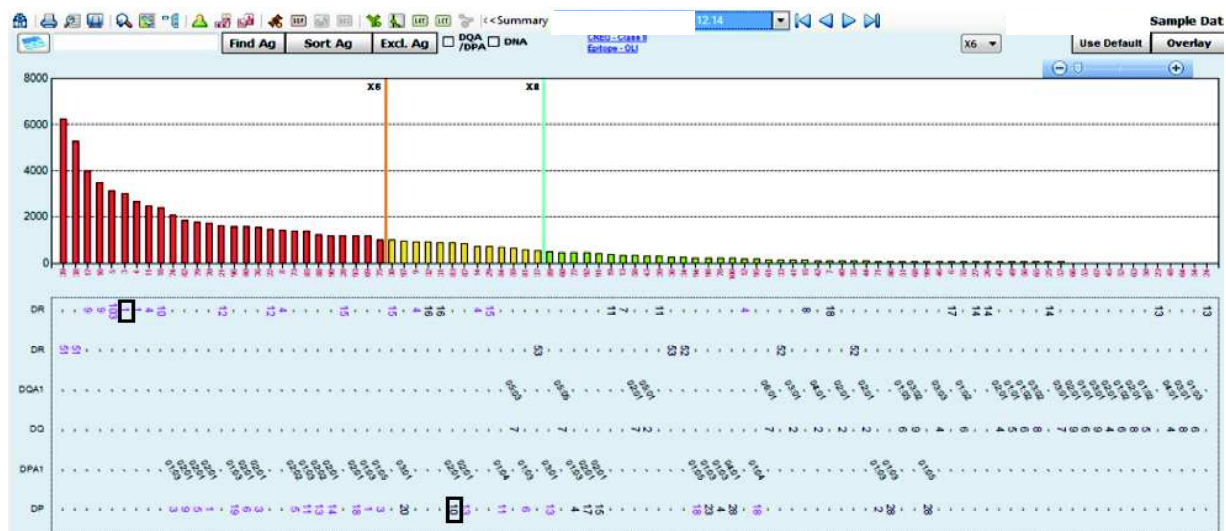
En classe I :

- **MFI>10000** : A29
- **8000<MFI<10000** : A43



En classe II :

- **3000<MFI<10000**: DR51 DR9 DR103 **DR1**
- **1000<MFI<3000**: DR4 DR10 DR12 DR15 DP3 DP9 DP5 DP1 DP19 DP6 DP11 DP13 DP14 DP18



- Accès à la greffe

Le protocole de désimmunisation a permis la décroissance de la MFI du futur DSA anti DR1 de près de 10000 à 3000. Par ailleurs, la MFI de l'anti DP10 a également diminué de 3000 à moins de 1000. L'anticorps anti A2 avait déjà une MFI inférieure à 3000 avant le protocole. C'est donc bien le protocole qui a permis l'accès à la greffe.

DSA	MFI début protocole	MFI fin protocole	Décroissance (%)
A2	500	250	50
DR1	9000	3000	67
DP10	3000	750	75

e) **Déroulement de la greffe**

La greffe a eu lieu le 19/12/2014, soit à J19 du protocole, avec un donneur de 58 ans décédé de cause vasculaire. Il existait 3 mismatches en classe 1 et 3 mismatches en classe 2.

f) Evolution

L'évolution initiale est favorable malgré une reprise de fonction lente (créatininémie égale à 33 mg/l à J5). Alors que la fonction du greffon apparaît parfaitement stable (créatininémie 13 mg/l), la biopsie systématique de M3 montre des lésions cotées g1 i0 ti0 t0 v0 ptc1 mm0 cg0 ci1 ct1 cv1 ah0 c4d2 selon Banff, en faveur d'un rejet aigu humoral infra clinique qui sera traité selon le protocole Marrakech.

Au moment du rejet, seule une augmentation de la MFI de l'anti DP10 de 750 à 1900 est observée, sans apparition de DSA.

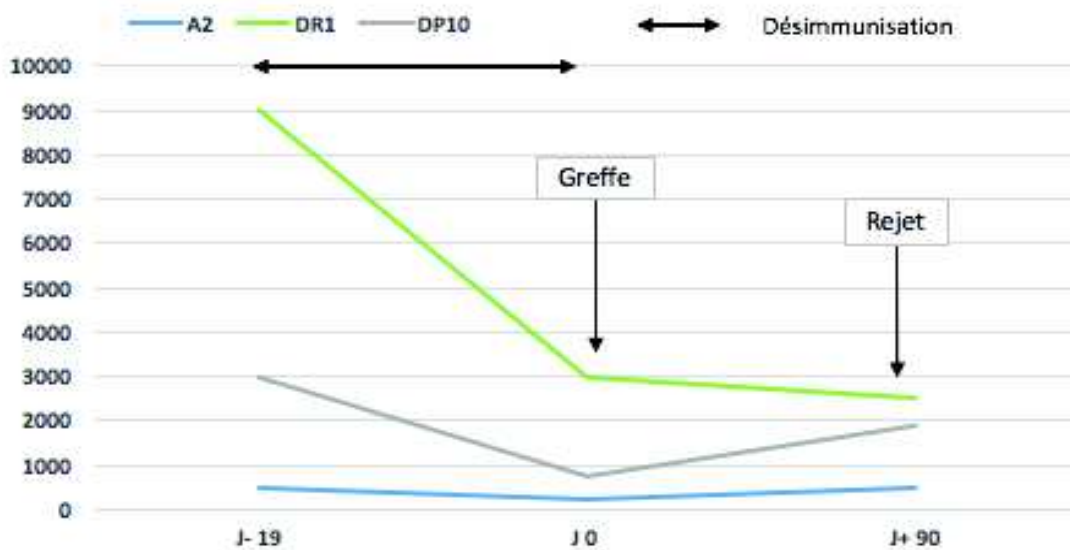


Figure n°3 (en abscisse le temps et en ordonnée la MFI) : Cinétique des MFI au début du protocole, au moment de la greffe et au moment du rejet.

La biopsie de décembre 2015 sera rassurante (g0 i0 ti1 t0 ptc1 mm0 cg0 ci2 ct2 ah1 c4d0 selon Banff) et la fonction du greffon restera stable (créatininémie 13 mg/l). Une tendance à la baisse de la MFI des DSA sera notée dans les mois suivants. En janvier 2017, la créatininémie est égale à 12 mg/l.

4. Patient n°4

a) Données démographiques

La patiente n°4 est une femme de 51 ans. Ses antécédents sont marqués par une insuffisance rénale chronique terminale dans un contexte de néphropathie de reflux, hémodialysée à partir de 1997. Quelques mois plus tard est réalisée une première transplantation marquée par un rejet chronique humoral actif. La patiente est retournée en hémodialyse en mai 2008. Une transplantectomie a été réalisée en juin 2008, la patiente a été transfusée à plusieurs reprises.

Elle est de nouveau inscrite sur liste depuis mai 2009.

b) Données immunologiques

- **Patient**

La patiente est de groupe A. Son typage HLA est le suivant : A1 A68 B44 B53 DR11 DR12 DQ7. Avant la deuxième greffe, son FAG est égal à 1 et son TGI à 100%.

- **Donneur(s)**

- 1^{ière} greffe n°1 (15/11/98): A2 A11 B57 B35 DR11 DR7

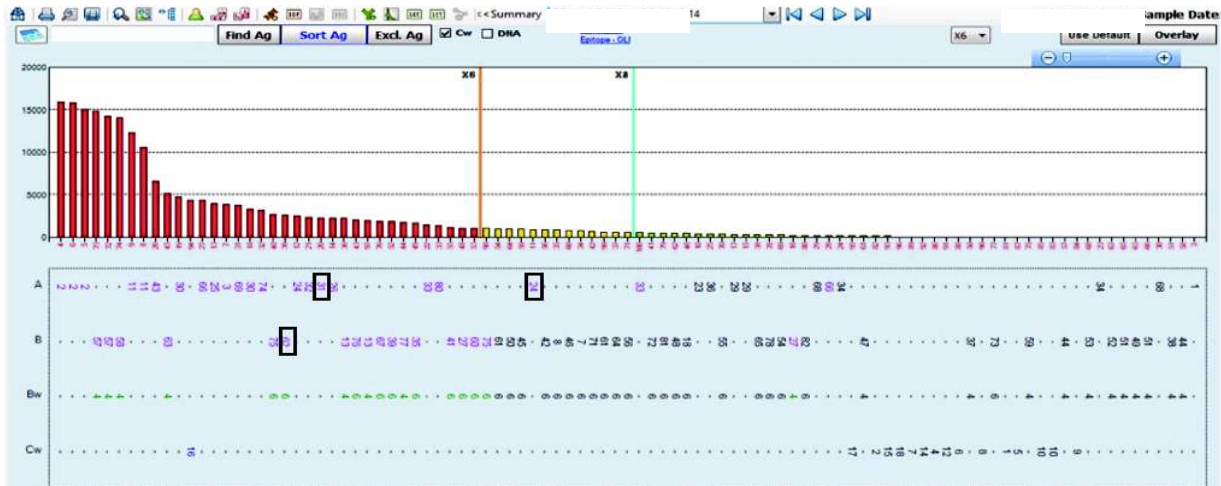
- 2^{ième} greffe (22/10/14): A24 A31 B62 B38 Cw3 Cw12 DR11 DR13 DQ7 DQ6

- **Avant le protocole**

Les spécificités des anticorps anti HLA étaient les suivantes :

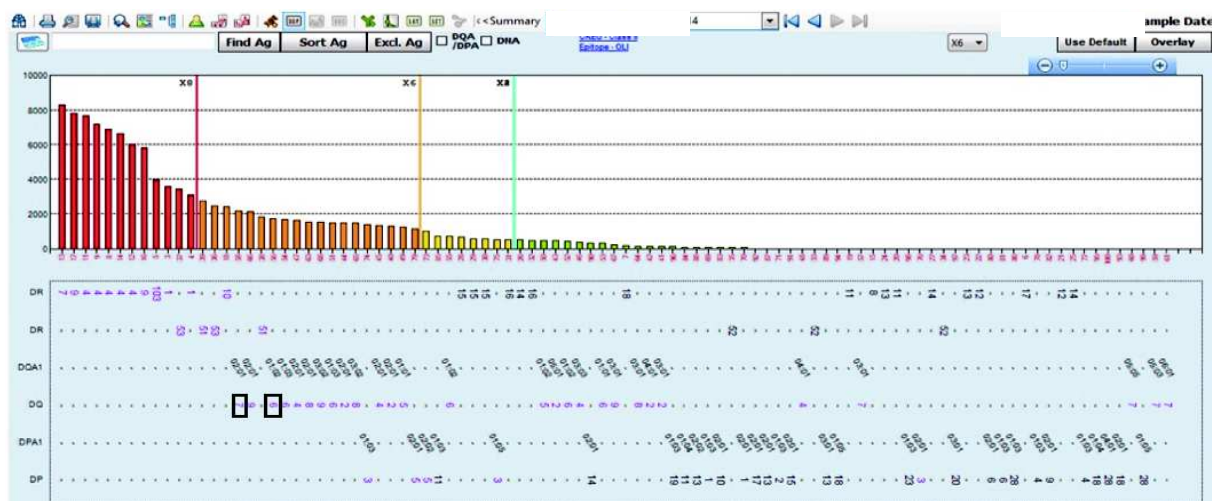
En classe I :

- **MFI>10000** : A2 A11 B57 B58
- **3000<MFI<10000**: A3 A25 A30 A43 A66 A69 A74 B63 Cw16
- **1000<MFI<3000**: A24 A26 A31 A32 A33 A80 B13 B27 B35 B39 B41 B60 B62 B67 B75 B76 B77



En classe II :

- **MFI>6000** : DR4 DR7 DR9
- **3000<MFI<6000** : DR1 DR103 DR53
- **1000<MFI<3000** : DR10 DR15 DR2 DR53 DQ2 DQ4 DQ5 DQ6 DQ7 DQ8 DQ9 DP3 DP5 DP11



Les antigènes suivants sont des antigènes permis : A23 A29 A34 A36 B18 B37 B38 B47 B48 B49 B51 B52 B5 B54 B55 B59 B65 B72 B73 B78 B81 B82 DR8 DR13 DR14 DR6 DR17 DR18 DR3 DR5 DQ4 DQ2.

c) Déroulement du protocole

Il a débuté le 06/10/2014, sans événement infectieux notable.

d) Efficacité du protocole

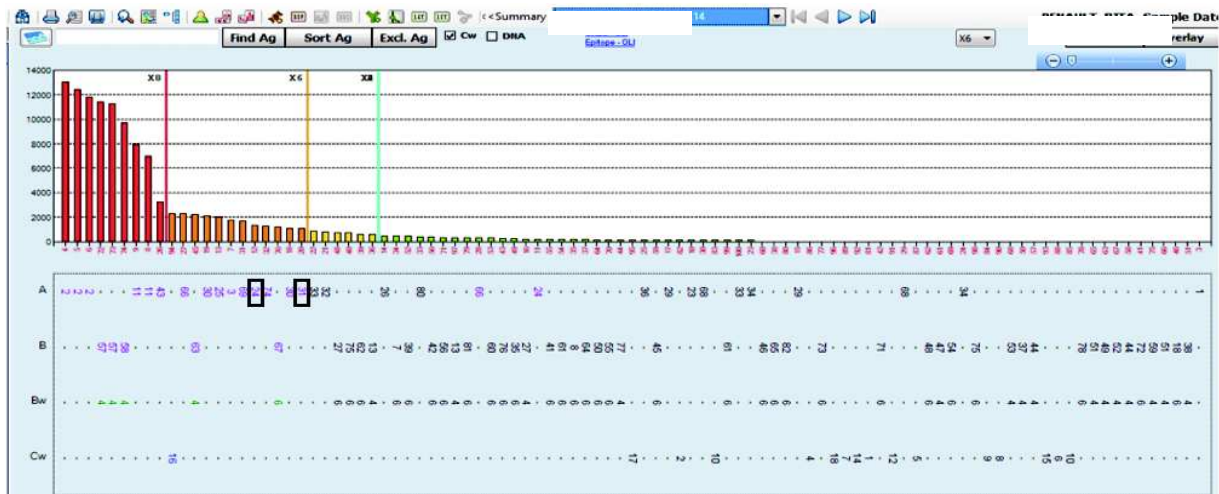
- Globale

Le jour de la greffe, les spécificités anti HLA étaient les suivantes,

En classe I :

- **MFI>10000** : A2 B57
- **3000<MFI<10000** : A11 B58 A43
- **1000<MFI<3000**: A3 **A24** A25 A30 **A31** A66 A69 A74 B63 B67 Cw16

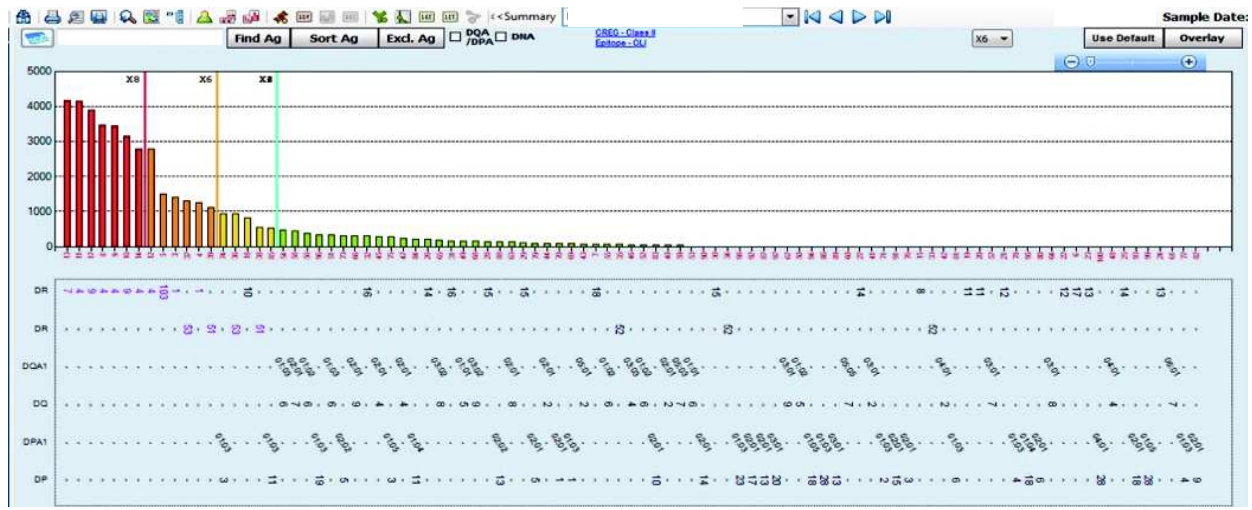
Les anticorps anti A32 A33 B13 B27 **B62** B75 font partie de la zone grise.



En classe II :

- **MFI>3000** : DR4 DR7 DR9
- **1000<MFI<3000** : DR1 DR103

Les anticorps anti DR11 DP3 faisaient partie de la zone grise.



- **Accès à la greffe**

Avant le protocole, les futurs DSA avaient déjà une MFI inférieure à 3000 en classe I et en classe II. Ce ne sont pas les techniques d'aphérèse qui ont permis l'accès à la greffe.

e) Déroulement de la greffe

La greffe a été réalisée le 22 octobre 2014, soit à J16 du début du protocole de désimmunisation, à partir d'un donneur de 55 ans décédé de cause vasculaire. Il existait 4 mismatches en classe I et 2 mismatches en classe II.

f) Evolution

La reprise de fonction est immédiate (créatininémie 15 mg/l à J5). Le 4 novembre, on assiste à une dégradation modérée de la fonction du greffon de façon concomitante à un épisode de pyélonéphrite aigue à Coli BLSE. La biopsie du greffon éliminera un rejet (g1 i1 ti0 t1 v0 ptc0 mm0 cg0 ci0 ct0 cv2 ah2

c4d0 selon Banff). En juin 2017, la fonction du greffon apparaît toujours satisfaisante (créatininémie égale à 16 mg/l).

5. Patient n°5

a) Données démographiques

La patiente n°5 est une femme de 39 ans, dont les antécédents sont marqués par une néphropathie de reflux nécessitant une prise en charge en hémodialyse en août 1997. Une première transplantation en 1998 est marquée par un rejet aigu cellulaire et par une glomérulopathie d'allogreffe nécessitant un retour en hémodialyse en février 2001 puis une transplantectomie en avril 2001. Une deuxième greffe rénale est réalisée le 12 février 2004 marquée par un rejet aigu de grade II puis d'une glomérulopathie d'allogreffe. La patiente est retournée en hémodialyse en février 2010 et a bénéficié d'une transplantectomie en avril 2010. Elle a mené à terme une grossesse en 2011.

Elle est à nouveau inscrite sur liste depuis avril 2010.

b) Données immunologiques

- Patient

La patiente est de groupe O. Son typage HLA est le suivant : A3 A11 B7 B47 DR4 DR7 DQ3 DQ2. Au moment du protocole, son FAG était égal à 0 son TGI à 95%.

- Donneur(s)

- 1^{ier} greffe (03.11.98): A3 A23 B7 B44 DR4 DR15
- 2^{ième} greffe (11.02.04): A26 A11 B38 B27 DR1 DR4 DQ5 DQ7

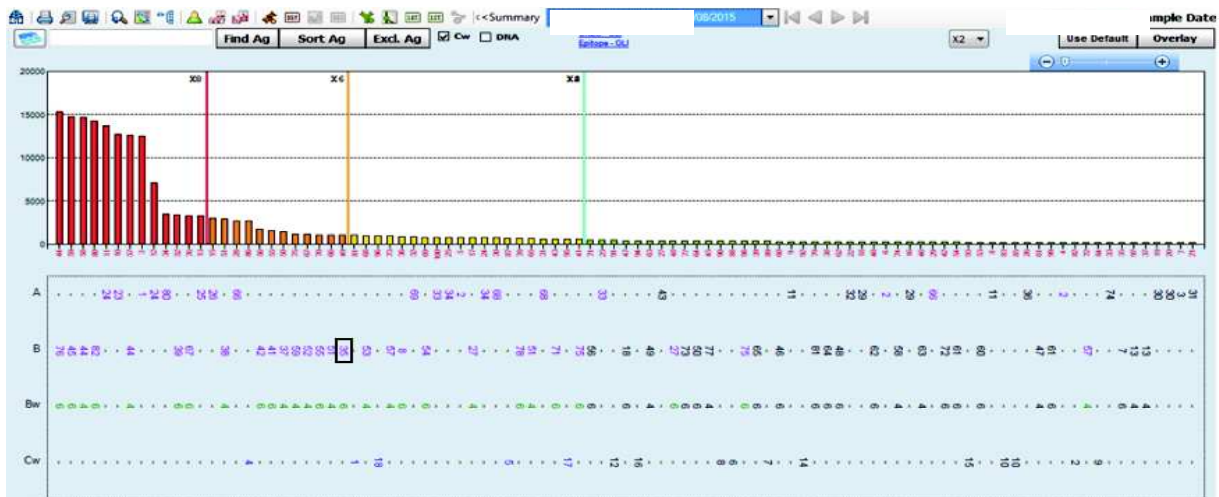
- 3^{ème} greffe (18/09/2015): A11 A29 B35 DR7 DR11 DQ2 DQ7 DP2 DP4

- Avant le protocole

Les spécificités des anticorps anti HLA étaient les suivantes,

En classe I :

- **MFI>10000**: A1 A23 A24 B44 B45 B76 B82
- **3000<MFI<5000** : A25 A80 B39 B67 Cw4
- **1000<MFI<3000**: A26 A66 **B35** B37 B38 B41 B42 B51 B52 B55 B59



En classe II :

- **MFI>10000** : DR103 DQ4 DQ5 DQ6 DQ8 DQ9 DQA1*03 DQA1*01 DQA1*02 DQA1*04
- **1000<MFI<3000** : DR51 DR103 DR8

Les anticorps anti DR16 DR10 DR12 **DR11** faisaient partie de la zone grise.



c) Déroulement du protocole

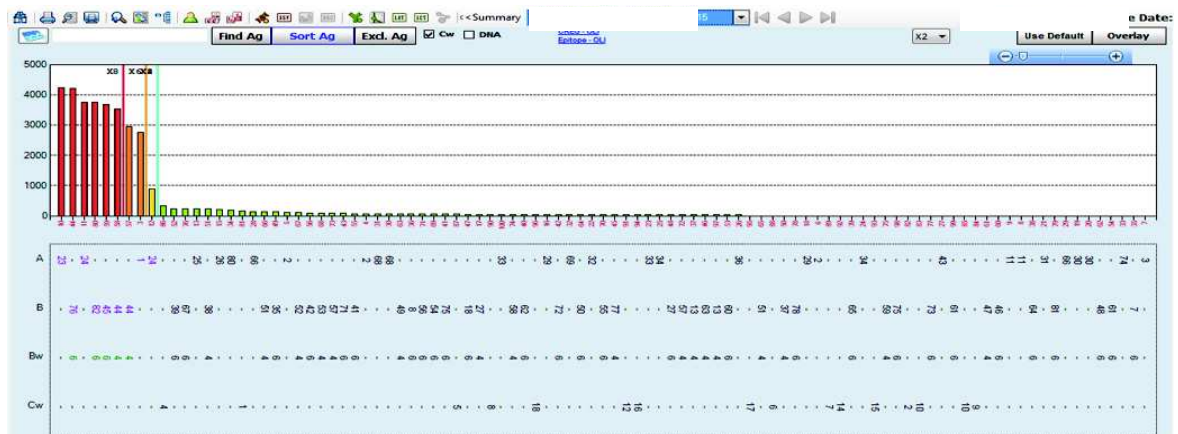
Il a débuté le 10/08/2015, sans évènement infectieux notable.

d) Efficacité du protocole

- Globale

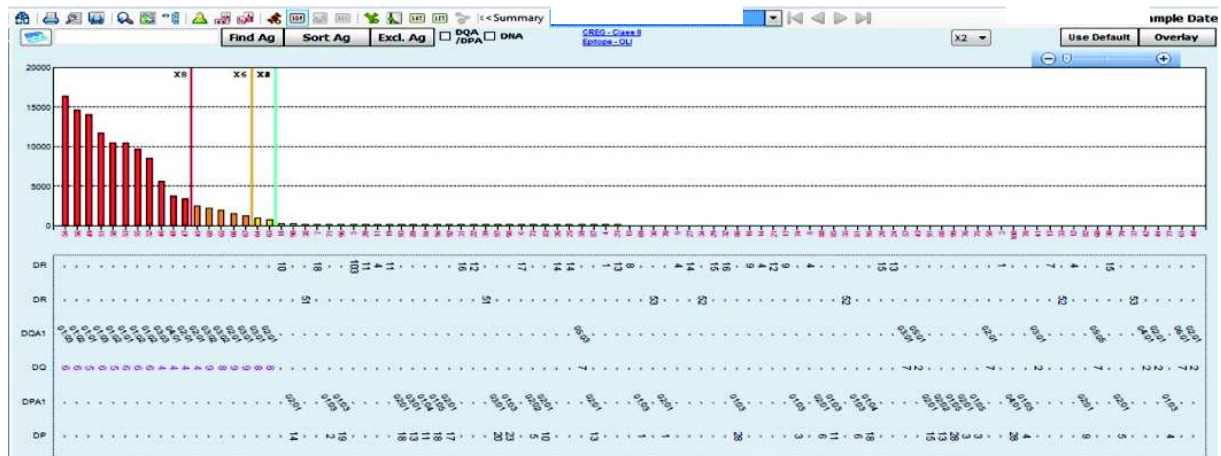
En classe I :

- **3000<MFI<5000** : A23 A24 B44 B45 B76 B82
- **1000<MFI<3000** : A1



En classe II :

- **MFI>10000** : DQ5 DQ6 DQA1*01
- **3000<MFI<10000** : DQ4 DQA1*03 DQA1*02 DQA1*04
- **1000<MFI<3000** : DQ8 DQ9



- Accès à la greffe

Avant le protocole, les anticorps anti HLA identifiés comme futur DSA étaient un anti B35 dont la MFI était égale à 1000 et un anti DR11 qui se situait dans la zone grise. Ce ne sont pas les techniques d'aphérèse qui ont permis l'accès à la greffe.

e) Déroulement de la greffe

La greffe a pu être réalisée à J38 du protocole, avec un greffon issu d'un donneur de 56 ans décédé de cause vasculaire. Cette greffe s'est compliquée sur le plan chirurgical par l'apparition d'un lymphocèle traité par marsupialisation. Il existait 2 mismatches en classe I et 2 mismatches en classe II.

f) Evolution

La reprise de fonction du greffon est retardée (créatininémie égale à 38 mg/l à J5). A J10, on assiste à une dégradation brutale de fonction du greffon motivant la réalisation d'une biopsie montrant des lésions de rejet humoral aigu selon Banff : g2 i0 ti0 t0 v1 ptc1 mm0 cg0 ci0 ct0 cv0 ah0 c4d0. Au moment du rejet, on note donc l'apparition du DSA anti A29 (MFI 3000), et l'ascension franche des MFI des anti B35 à 13500 et DR11 à 5000.

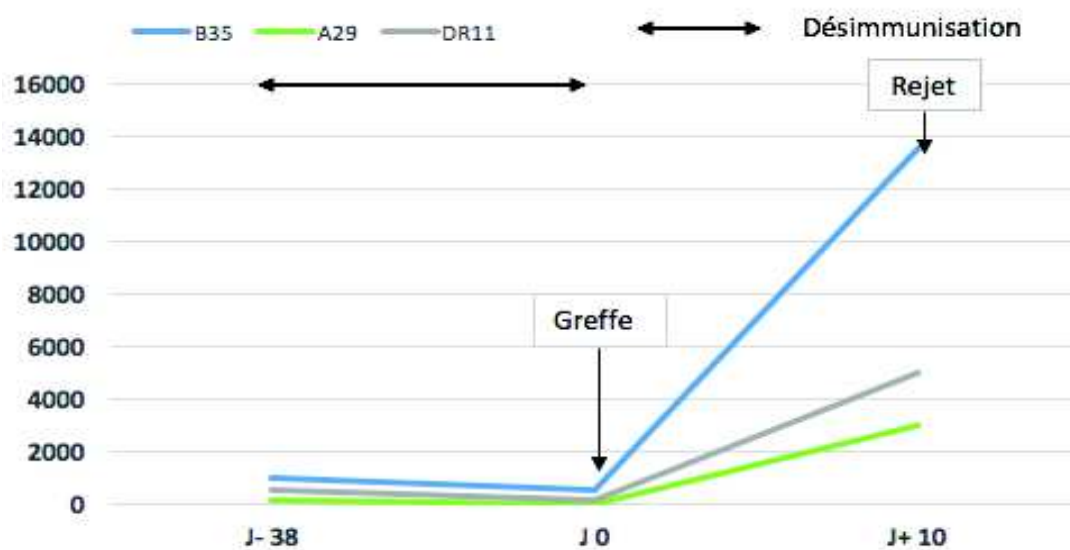


Figure n°4 (en abscisse le temps et en ordonnée la MFI) : Cinétique des MFI au début du protocole, au moment de la greffe et au moment du rejet.

Un traitement selon le protocole Marrakech est initié permettant une amélioration de la fonction du greffon jusqu'à une créatininémie égale à 18 mg/l. A 3 mois de la greffe, l'évolution est marquée par un rejet chronique humoral actif motivant la poursuite d'une trithérapie immunosuppressive orale et l'introduction de séances de photophérèse.

A 1 an de la greffe, la créatininémie est égale à 13 mg/l avec un rapport albuminurie/protéinurie égal à 100mg/g, motivant un sevrage progressif de la photophérèse. Un épisode de grippe A en février 2017 légitime l'arrêt du Cellcept. Dans les suites, on assiste à une dégradation de la fonction du greffon et à l'apparition d'une protéinurie faisant diagnostiquer une aggravation des lésions de rejet humoral (g3 i0 ti0 t0 v0 ptc3 mm2 cg2 ci1 ct1 cv3 ah2 c4d0 selon Banff). Il est alors décidé de ré intensifier les séances de photophérèse. Le 19/06/2017, la créatininémie est égale à 17 mg/l.

6. Patient n°6

a) Données démographiques

Le patient n°6 est un homme de 52 ans, porteur d'un syndrome d'Alport compliqué d'une insuffisance rénale chronique terminale requérant une prise en charge en hémodialyse en avril 1992. Il a bénéficié d'une première transplantation rénale en juin 1992 avec un retour en hémodialyse en 2009. Une transplantectomie a été réalisée en 2010. Il est réinscrit sur liste depuis 2011.

b) Données immunologiques

- Patient

Le patient est de groupe A. Son typage HLA est le suivant : A2 A31 B60 DR4 DR13 DQ8 DQ6. Avant de débiter le protocole, son TGI était égal à 96%, son FAG à 0.

- Donneur(s)

1^{ière} greffe (23/06/1992) : A3 B7 B27 DR4

2^{ième} greffe (23/06/2015): A26 A29 B8 B44 Cw7 Cw16 DR3 DR4 DQ2 DQ3 DP2 DP4

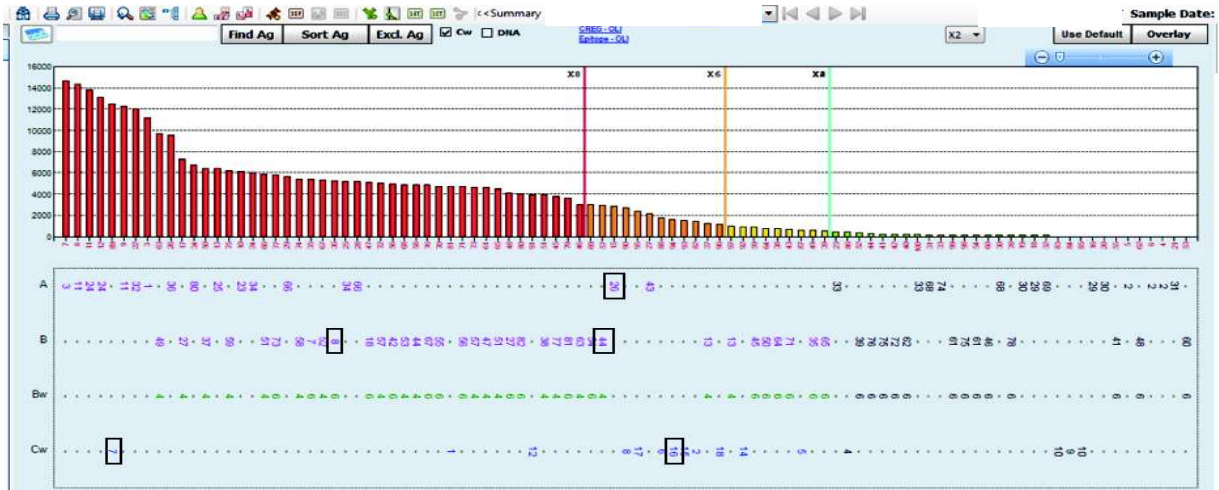
- Avant le protocole

Les spécificités anti HLA étaient les suivantes,

En classe I :

- **MFI>10000:** A1 A3 A11 A24 A32 Cw7

- **3000<MFI<10000**: A23 A25 **A26** A27 A34 A36 A80 A66 **B8** B18 B27 B37 B49 B51 B52 B58 B59 B73 B7 B13 B38 B42 **B44** B45 B47 B50 B53 B54 B55 B56 B57 B63 B67 B73 B77 B81 B82 Cw1 Cw12
- **1000<MFI<3000**: A43 B54 B13 Cw8 Cw17 Cw6 **Cw16** Cw15 Cw2 Cw18



En classe II :

- **MFI>10000** : **DQ2** DQ4 DQ7 DQA1*02 DQA1*03 DQA1*04 DQA1*05
- **3000<MFI<10000** : DQ7 DQ8 DQ9



c) Déroulement du protocole

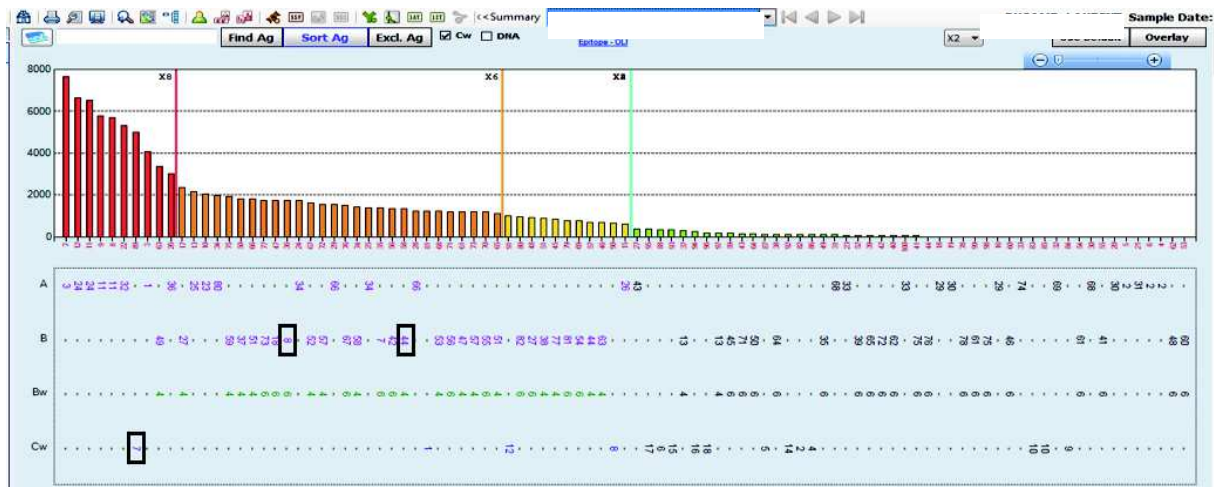
Il a débuté le 01/06/2015, sans événement infectieux notable.

d) Efficacité du protocole

- Globale

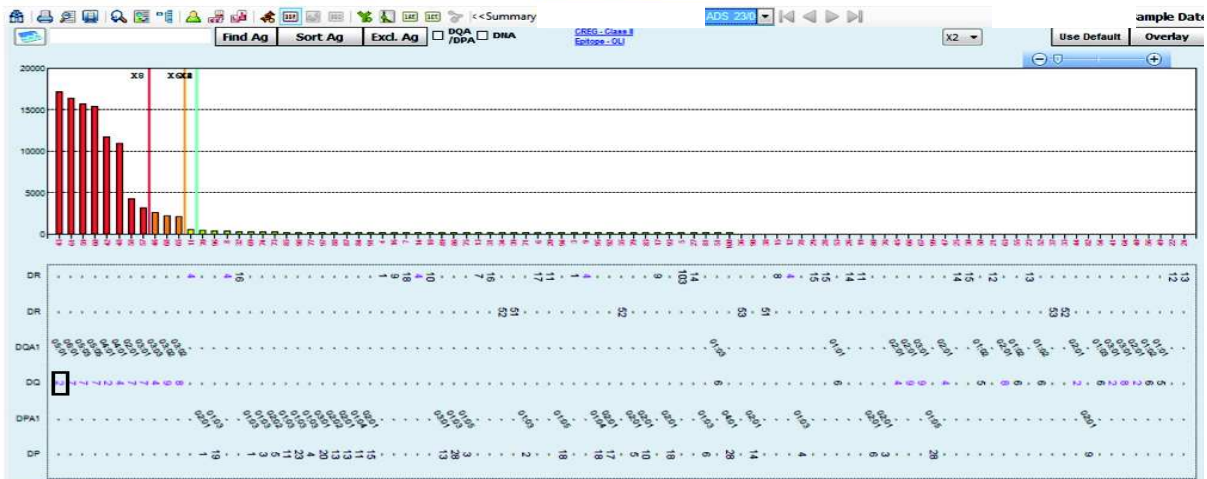
En classe I :

- **3000<MFI<10000**: A3 A24 A11 A32 A1 A36 B49 **Cw7**
- **1000<MFI<3000**: A25 A23 A80 A34 A66 B27 B59 B37 B51 B73 B18 **B8** B52 B57 B67 B58 B7 B42 **B44** B53 B56 B47 B55 Cw1 Cw12



En classe II :

- **MFI>10000** : **DQ2** DQ4 DQ7 DQA*04 DQA1*05 DQA1*06
- **3000<MFI<10000** : DQA1*01 DQA1*03
- **1000<MFI<3000** : DQ8 DQ9



- Accès à la greffe

La désimmunisation a permis une décroissance des MFI des DSA anti A26, B8 et B44 en dessous du seuil de 3000. En revanche, les MFI de l'anti DQ2 et de l'anti Cw7 sont restées supérieures à 3000, ne positivant pas le cross match. La MFI de l'anti Cw16 était déjà inférieure à 3000 avant le protocole. Ce sont les techniques d'aphérèse qui ont donné accès à la greffe.

DSA	MFI début protocole	MFI fin protocole	Décroissance (%)
A26	3000	500	83
B8	5500	1700	69
B44	3000	1300	57
Cw7	12500	5000	60
DQ2	17000	17000	0

e) Déroulement de la greffe

La greffe a eu lieu le 24/06/2015 soir à J23 du début du protocole, avec un donneur de 51 ans décédé de cause non vasculaire. Il existait 4 mismatches en classe I et 3 mismatches en classe II.

f) Evolution

La reprise de fonction du greffon est retardée (créatininémie 34 mg/l à J5). A J7, on note une dégradation de fonction du greffon avec une biopsie montrant des lésions g1 i0 ti0 t0 v0 ptc0 mm0 cg0 ci0 ct0 cv1 ah2 c4d3 selon Banff, compatible avec un rejet aigu humoral. Une deuxième biopsie réalisée le 10/07/2015 montrait une aggravation des lésions : g2 i2 ti0 t1 v0 ptc1 mm0 cg0 ci0 ct0 cv1 ah2 c4d1.

Au moment du rejet, on note une ré-ascension des MFI des DSA anti B8 et anti B44, respectivement à 3000 et 10500.

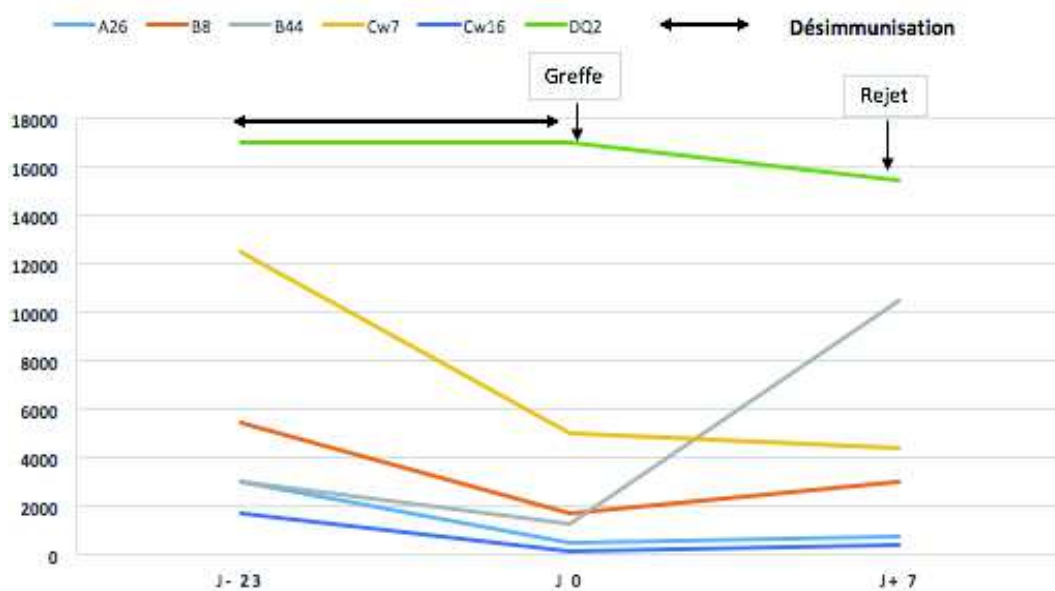


Figure n°5 (en abscisse le temps et en ordonnée la MFI) : Cinétique des MFI au début du protocole, au moment de la greffe et au moment du rejet.

Un traitement selon le protocole Marrakech est initié le 10/07/2015 permettant une amélioration de la fonction du greffon (créatininémie = 41 mg/l). La biopsie à M10 montre une persistance des lésions de rejet aigu mixte à médiation humorale et cellulaire, ainsi que des lésions de rejet chronique (g2 i2 ti2 t3 v2 ptc3 mm1 cg2 ci1 ct3 cv3 ah2 c4d2 selon Banff). Le 01/03/2017, la fonction du greffon est stable avec une créatininémie à 30 mg/l.

Sur le plan infectieux, la période post greffe est marquée par une bactériémie à *Klebsiella oxytoca* et *Enterobacter Cloacae* à point de départ digestif, et un herpès bucco labial.

7. Patient n°7

a) Données démographiques

La patiente n°7 est une femme de 51 ans, dont les antécédents sont marqués par une néphropathie de reflux. Elle a bénéficié d'une première transplantation en 1993 avec un retour en hémodialyse en mai 1997 après l'évolution défavorable d'un rejet aigu cellulaire. Une deuxième transplantation rénale est réalisée en 2000, marquée par un rejet aigu humoral avec un retour en hémodialyse en 2001.

Elle est inscrite sur liste depuis avril 2005.

b) Données immunologiques

- Patiente

La patiente est de groupe B, son typage HLA est le suivant : A2 A24 B44 B62 Cw10 Cw16 DR4 DR7 DQ2 DQ8 DP3 DP4. Avant le protocole, son TGI était égal à 100%.

- Donneur(s)

1^{er} greffe (06/03/94): A3 A11 B7 B44 DR4 DR53 DQ3

2^{ème} greffe (26/08/00): A11 A24 B57 B62 DR1 DR4 DQ5 DQ8

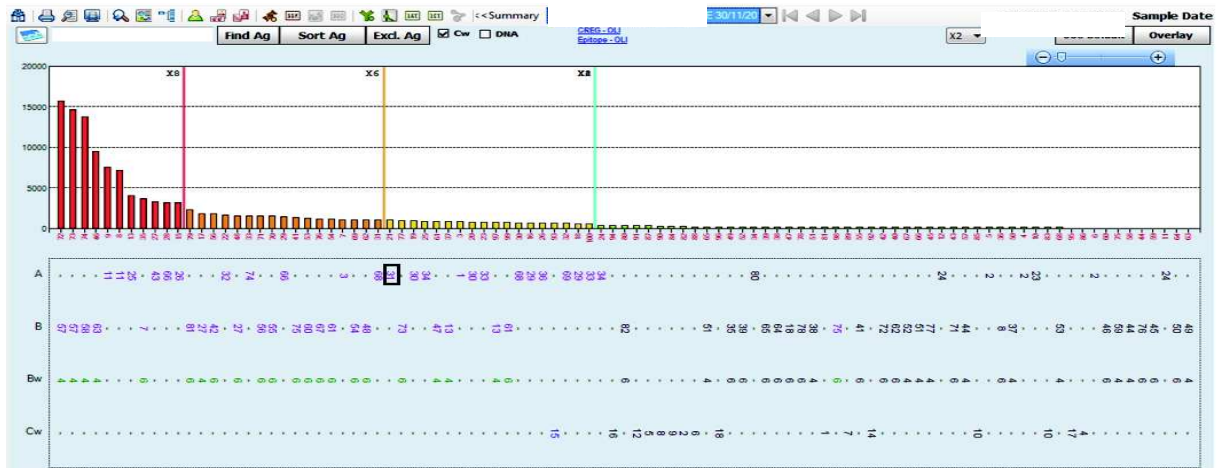
3^{ème} greffe (22.01.16): A23 A31 B44 B62 Cw4 Cw7 DR4 DR7 DQ8 DQ2 DP3 DP4

- Avant le protocole

Les spécificités anti HLA étaient les suivantes,

En classe I :

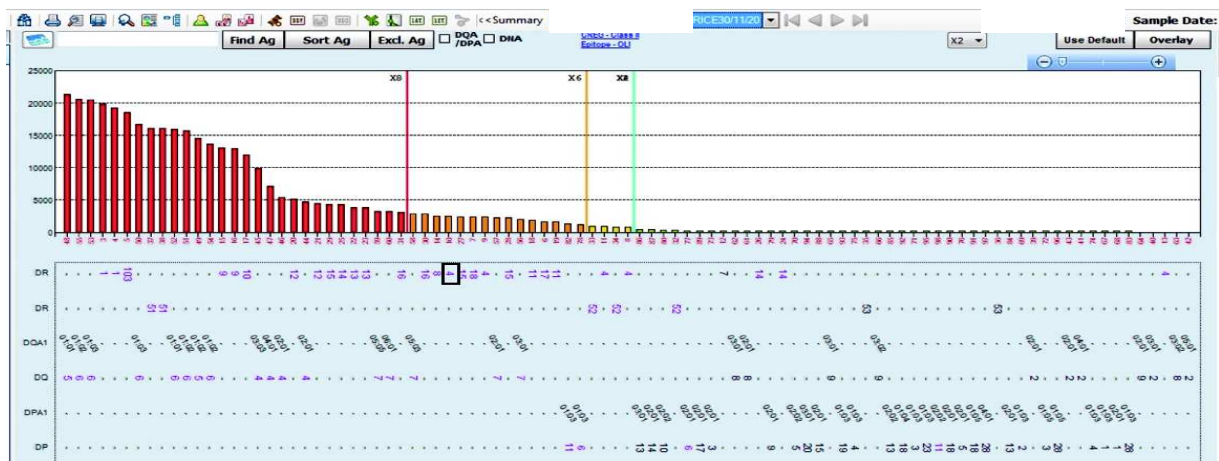
- **MFI>10000** : B57 B58
- **3000<MFI<10000**: A11 A25 A26 A43 A66 B7 B63
- **1000<MFI<3000**: A3 **A31** A32 A34 A43 A68 A74 B27 B42 B48 B54 B55 B56 B60 B61 B67 B75 B81



Les antigènes A9 **A23** B21 B49 B50 sont des antigènes permis.

En classe II :

- **MFI>10000**: DQ5 DQ6 DR1 DR103 DR9
- **5000<MFI<10000**: DR10 DR12 DR13 DR14 DR51 DQ4
- **1000<MFI<3000**: **DR4** DR8 DR11 DR15 DR16 DR17 DR18 DQ7 DQA1*03 DQA1*03 DP6 DP11



c) Déroulement du protocole

Il a débuté le 30/11/2015, sans effet indésirable notable.

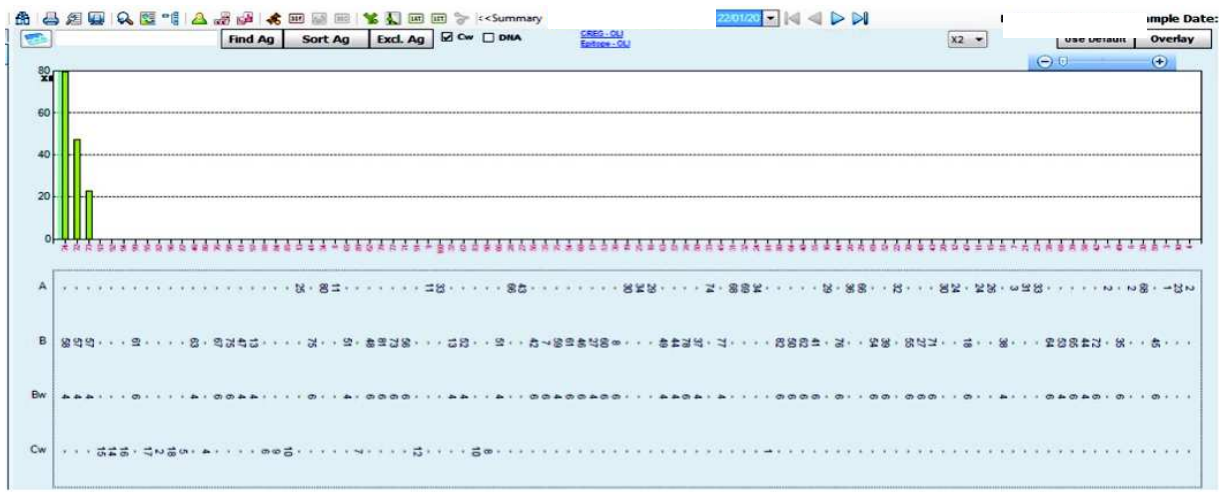
d) Efficacité du protocole

- Globale

A J54 du protocole, les anticorps anti HLA identifiés étaient les suivants :

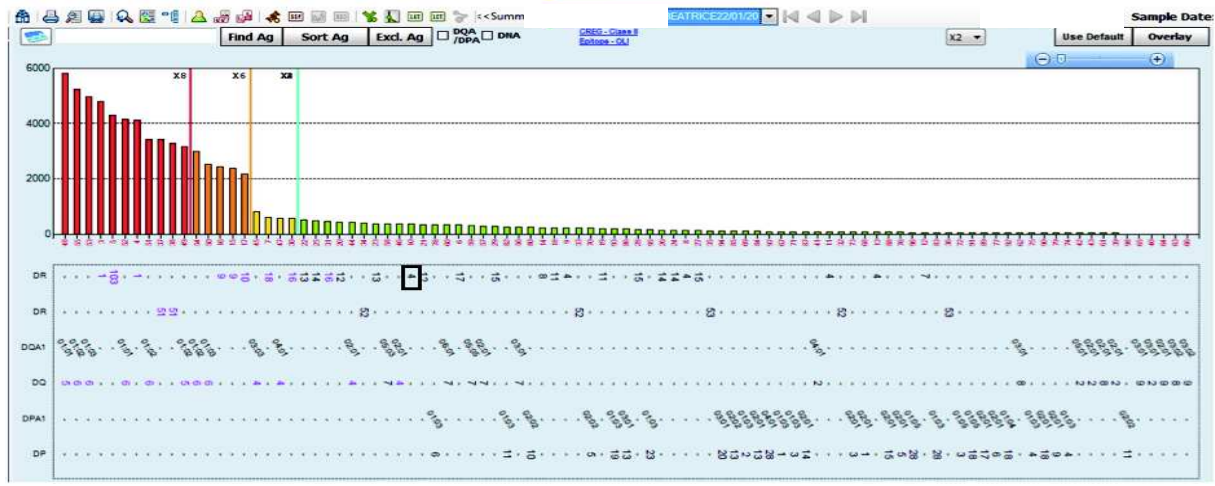
En classe I :

Aucune spécificité n'était détectée en classe I.



En classe II :

- **3000<MFI<10000:** DR1 DR103 DR51 DQ5 DQ6 DQA1*01
- **1000<MFI<3000 :** DR9 DR10



- Accès à la greffe

Avant le protocole, les futurs DSA anti A31 et DR4 avaient déjà une MFI inférieure à 3000. Ce ne sont pas les techniques d'aphérèse qui ont permis l'accès à la greffe.

e) Déroulement de la greffe

Elle est eu lieu le 23 janvier 2016, soit à J54 du du protocole de désimmunisation, avec un greffon issu d'un donneur de 78 ans décédé de cause non vasculaire. Il existait 2 mismatches en classe I, aucun mismatch en classe II.

f) Evolution

L'évolution immédiate est marquée par une absence de reprise de fonction du greffon. La biopsie du greffon réalisée à J13 montre des lésions de rejet hyper aigu humoral compliqué d'une nécrose corticale. La patente n'a jamais été sevrée de la dialyse, une transplantectomie est réalisée le 07/02/2016.

Au moment du rejet, on ne notait pas l'apparition ni la ré-ascension de DSA.

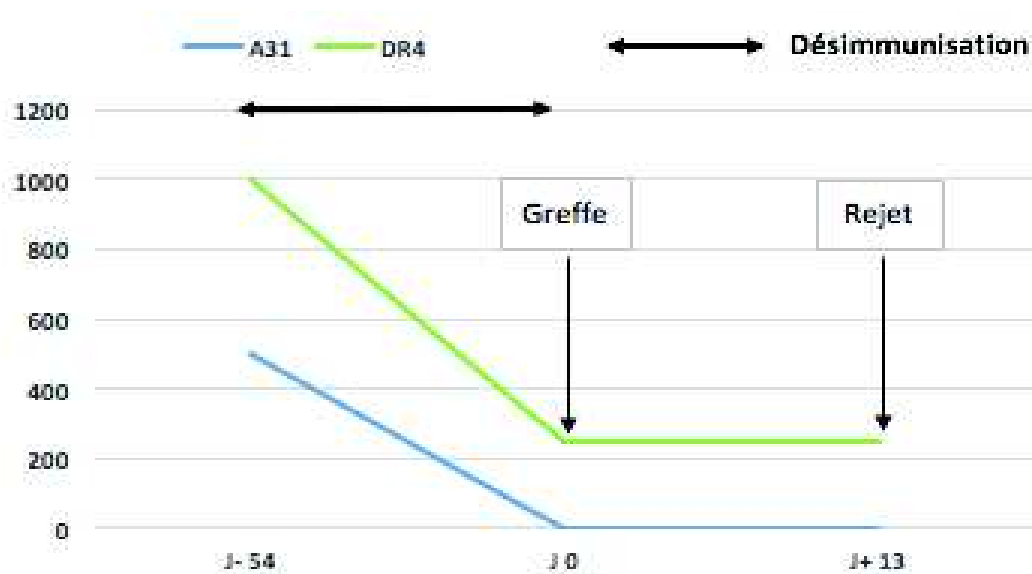


Figure n°6 (en abscisse le temps et en ordonnée la MFI) : Cinétique des MFI au début du protocole, au moment de la greffe et au moment du rejet.

Quelques semaines plus tard, on notait une réapparition de DSA anti A31 avec une MFI supérieure à 3000.

8. Patient n°8

a) Données démographiques

Le patient n°8 est un homme de 67 ans. Dans le cadre de l'évolution défavorable d'une néphropathie à dépôts mésangiaux d'IgA, il a été pris en charge en hémodialyse en février 1985. Il a bénéficié de trois greffes émaillées de retour en hémodialyse : la première en 1986 marquée par un rejet aigu vasculaire puis chronique, la deuxième en mai 1991 en échec après un rejet à médiation cellulaire, la troisième en octobre 2005 en échec après une néphropathie à BK virus. Deux transplantectomies ont été réalisées en 1988 puis 1995. Il a été transfusé à plusieurs reprises.

Il est de nouveau inscrit sur liste depuis 1999.

b) Données immunologiques

- Patient

Il est de groupe A. Son typage HLA est le suivant : A24 B35 Cw4 DR11 DQ7 DP3 DP4. Avant le protocole, son TGI était égal à 100%.

- Donneur(s)

1^{ère} greffe (10/12/1986): A2 A24 B15 B35 DR5

2^{ème} greffe (11/05/1991): A9 B18 B38 DR1 DR11

3^{ème} greffe (02/10/2005): A24 A29 B44 B35 DR11 DQ7

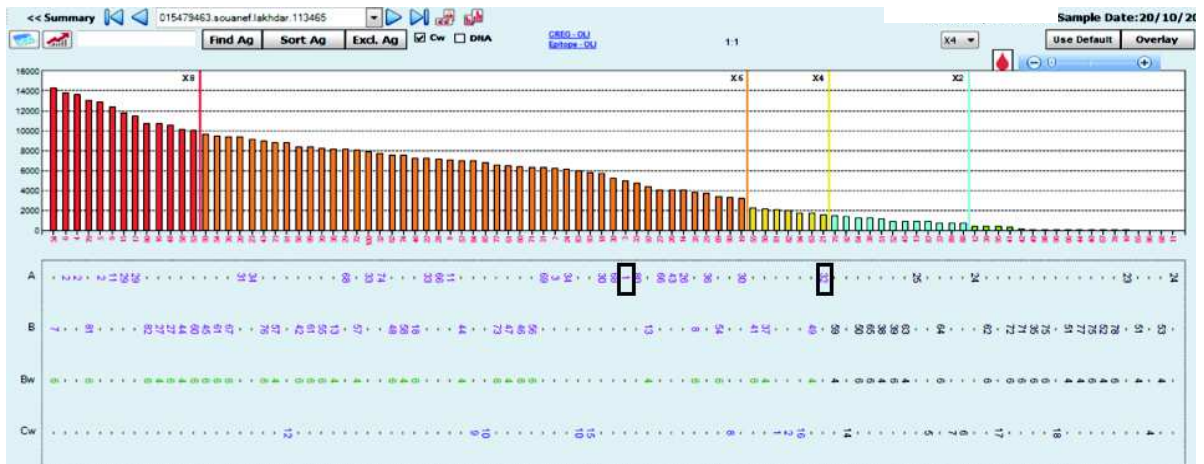
4^{ème} greffe (18/01/2015): A1 A32 B35 Cw4 DR11 DR13 DQ7 DP2 DP4

- Avant le protocole

Avant le début du protocole, les spécificités anti HLA étaient les suivantes,

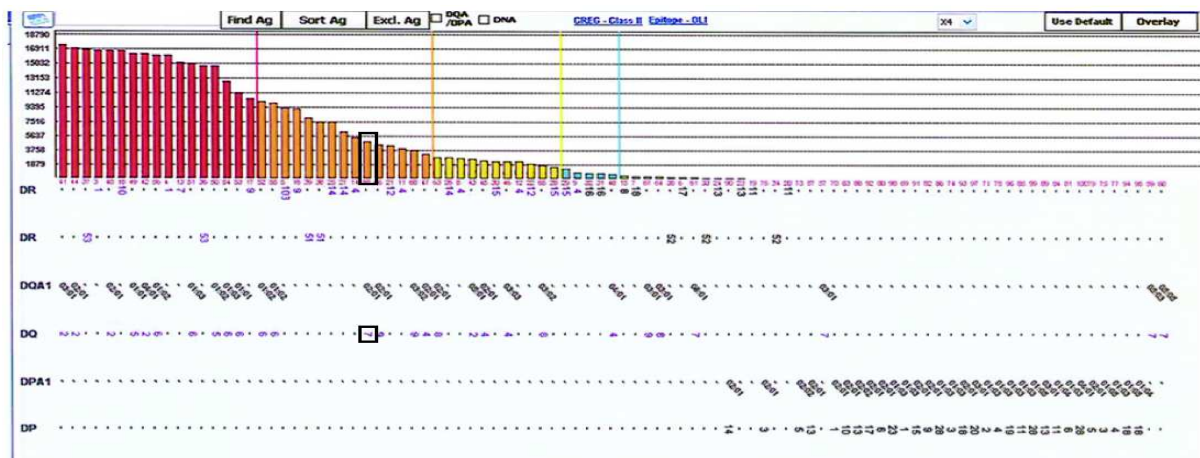
En classe I :

- **MFI>10000**: B60 B55 B42 B82 Cw12 B45 B18 B61 B58 B76 B56 B48 B27 B57 Cw9 B73 B13 B46 Cw10 B47 B67 A80 A3 B81 Cw15 **A1** A69 A43 A26 A34 A30 A66 B8 A36 A68 A33 B37 B54 A74 Cw8
- **3000<MFI<10000**: Cw2 B7 A29 B41 Cw1 A11 **A32** A31 B38 Cw16 B59 B49 Cw14 A25 B50 B39 B65 B63 Cw7 Cw17 Cw5 A24 B64 Cw6
- **1000<MFI<3000** : A2 B62 B72 Cw18



En classe II :

- **MFI>10000** : DR1 DR10 DR53 DQ5 DR7 DQ2 DQ6
- **3000<MFI<10000**: DR9 DR103 DR51 DR14 **DQ7** DQ9 DR4 DR12
- **1000<MFI<3000** : DQ4 DQ8 DR15



c) Déroulement du protocole

Il a débuté le 22/09/2014, marqué par une névrite vestibulaire droite d'étiologie probablement virale le 24/10 (soit J32) d'évolution favorable. Il existait 2 mismatches en classe I et 2 mismatches en classe II.

d) Efficacité du protocole

- Globale

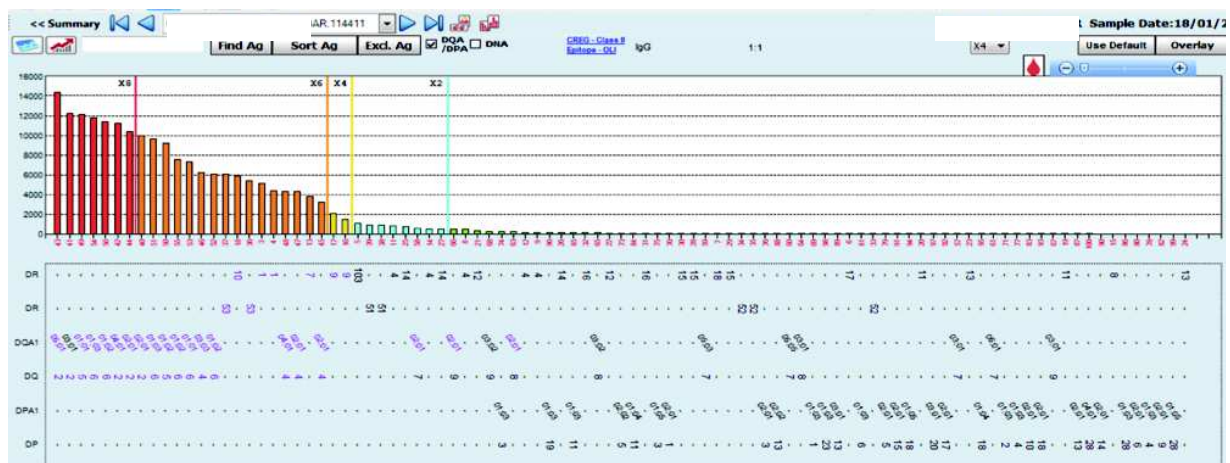
En classe I :

- **MFI>10000** : A2 B7 A11 B81
- **3000<MFI<10000**: B82 B27 A29 B61 A34 A31 B60 B67 B61 B76 B44 B42 B13 B45 B55 B48 B18 Cw12 B18 A68 A66 B57 A74 A33 B47 B44 B56 B73 B58 B13 A69 A11 A34 A68 A30 A3
- **1000<MFI<3000**: A80 B8 B54 **A1** A43 A26 A30 A36 B41 B37 B59



En classe II :

- **MFI>10000** : DQ2 DQ5 DQ6
- **3000<MFI<10000** : DQ4 DR 10 DR53 DR1 DQ4 DR7
- **1000<MFI<3000** : DR9 DR103



- Accès à la greffe

Avant le début du protocole, les anticorps anti HLA suivants étaient dirigés contre le futur greffon : A1, A32, DQ7. Le protocole de désimmunisation a permis de diminuer leur MFI respective en dessous de 3000, ici ce sont les techniques d'aphérèse qui ont permis l'accès à la greffe.

DSA pré protocole	MFI début protocole	MFI fin protocole	Décroissance (%)
A 1	15000	2000	87
A32	9500	500	95
DQ7	5000	500	90

e) Déroulement de la greffe

Elle a été réalisée le 18/01/2015, soit J118 du début du protocole, d'un greffon issu d'un donneur de 76 ans décédé de cause vasculaire. Durant le bloc opératoire, une plaie vasculaire a nécessité une plastie de l'artère rénale.

f) Evolution

Dès J1 est objectivée une thrombose de l'artère du greffon. Le greffon n'a pas jamais repris de fonction, une transplantectomie est réalisée le 19/01/2015 et les traitement immunosuppresseurs sont arrêtés. Le patient n'a jamais pu être sevré de dialyse. Aujourd'hui, son TGI est égal à 100%.

9. Patient n°9

a) Données démographiques

La patiente n°9 est une femme de 45 ans dont les antécédents sont marqués par une polykystose hépatorénale nécessitant une prise en charge en hémodialyse en septembre 2007. Elle a bénéficié d'une première transplantation rénale le novembre 2008 compliquée d'une nécrose corticale, avec un retour en hémodialyse en janvier 2009. La patiente a mené à terme deux grossesses. Elle est à nouveau inscrite sur liste depuis 2010.

Avant le protocole, son TGI est égal à 96%, son FAG à 0.

b) Données immunologiques

- Patient

La patiente est de groupe A, son typage HLA est le suivant : A23 A66 B49 B53 DR4 DR13 DQ3 DQ6.

- Donneur(s)

1^{ère} greffe (03/11/2008): A2 A30 B13 DR16 DR14 DQ5 DQ7

2^{ème} greffe (29/11/2013): A1 A24 B51 B57 DR13 DQ6 DQA1*01

- Avant le protocole

Les spécificités anti HLA étaient les suivantes :

En classe I :

- **MFI>10000** : A30 A31 B7 A2 B61 B60 B27 B13
- **3000<MFI<10000**: B48 B61 A32 **B57** A68 A69 B58 A3 A36 B47 A74 B73 A29 A11

- **1000<MFI<3000** : A66 A33 B63 **A24**

En classe II :

- **MFI>5000** : DQ7
- **3000<MFI<5000** : DQ2 DP18 DP9
- **1000<MFI<3000** : DQ4 DP17 DP6 DP10 DP14 DP3 DQ2 DP28 DQ11 DP4 DP5 DP28 DR51 DR11
DP18 DP3 DP2 DP18

Les antigènes anti A9 A10 A26 A34 A80 B5 B8 B12 B16 B18 B21 B22 B35 B38 B39 B41 B42 B44 B45 B48 B50 **B51** B52 B54 B55 B56 B62 B70 71 B72 B75 B77 B82 étaient des antigènes permis.

c) Déroulement du protocole

Il a débuté le 01/10/2013, marqué par une anémie multifactorielle nécessitant une transfusion de concentrés érythrocytaires à J10.

d) Efficacité du protocole

- Globale

Le veille du jour de greffe, les spécificités anti HLA étaient les suivantes :

En classe I :

- **3000<MFI<10000** : A2 A30 A31 **B57** A68 A69
- **1000<MFI<3000**: B61 B60 B13 A68 B58 A3 A36 A74 A29

En classe II :

- **3000<MFI<5000** : DQ7
- **1000<MFI<3000** : DQ2

- Accès à la greffe

Avant le protocole, l'anticorps anti HLA A24, futur DSA, avait déjà une MFI inférieure à 3000. Les techniques d'aphérèse ont permis de diminuer la MFI de l'anticorps anti B57 de 7800 jusqu'à 3800 (soit une décroissance de 51%), qui n'a pas positivé le cross match. Ici, c'est le protocole de désimmunisation qui a permis l'accès à la greffe.

DSA	MFI début protocole	MFI fin protocole	Décroissance (%)
B57	7800	3800	51

e) Déroulement de la greffe

La greffe a eu lieu le 29/11/2013 soit à J49 du début du protocole. Il s'agit d'un greffon issu d'un donneur de 58 ans, décédé de cause non vasculaire. Il existait 4 mismatches en classe I, aucun mismatch en classe II.

f) Evolution

La reprise de la fonction du greffon est lente (créatininémie égale à 56 mg/l à J5), avec un nadir à 13 mg/l. Une ponction biopsie du greffon réalisée de façon systématique à M3 met en évidence des lésions de rejet humoral chronique infra clinique (t0 i0 g3 mm1 v0 cpt3 ct1 ci1 ti0 cg0 cvx c4d0 selon Banff).

Au moment du rejet, on note une ré-ascension des MFI des DSA anti B57 (MFI 7800), anti A24 (MFI 3200) et l'apparition d'un anti anti A1 (MFI 3000).

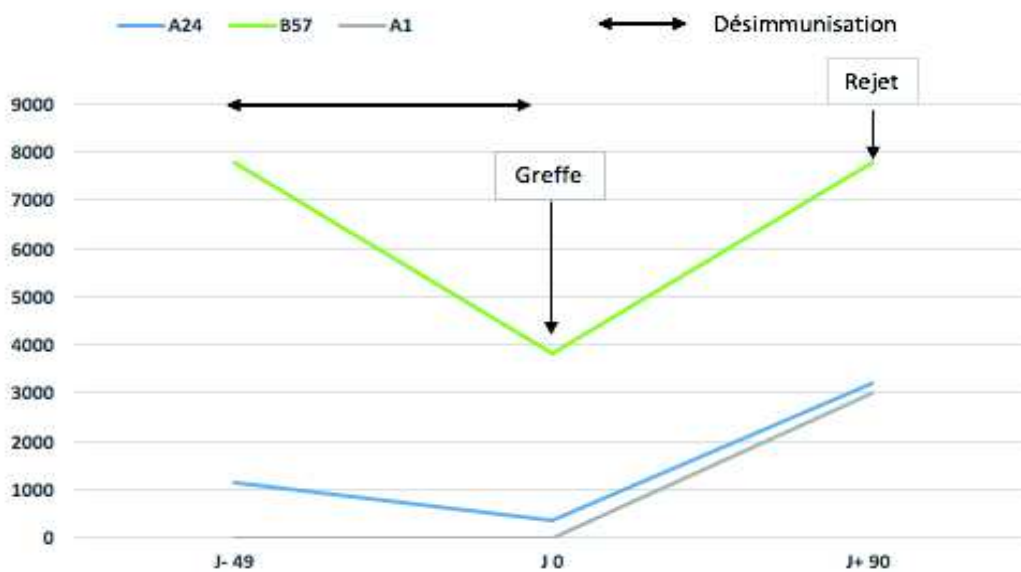


Figure n°7 (en abscisse le temps et en ordonnée la MFI) : Cinétique des MFI au début du protocole, au moment de la greffe et au moment du rejet.

Un traitement par 6 cures d'immunoglobulines polyvalentes sera réalisé. Une biopsie de contrôle à M10 montre une glomérulopathie chronique d'allogreffe dans une forme active (t0 i0 g2 ah0 v0 ti1 cg1 ci2 ct1 cv2 mm0 cpt1 c4d0). La fonction du greffon restera stable et en juin 2017, la créatininémie est égale à 16 mg/l.

Sur le plan infectieux, la patiente a présenté plusieurs épisodes de pneumopathies accompagnées d'infections ORL à *haemophilus influenzae*. Plusieurs épisodes d'infections de kystes des reins natifs motiveront une néphrectomie droite en janvier 2017.

10. Patient n°10

a) Données démographiques

La patiente n°10 est une femme de 54 ans. Ses antécédents sont marqués par une insuffisance rénale chronique terminale sur une néphropathie indéterminée, prise en charge en hémodialyse en

décembre 1990. Elle a bénéficié d'une première transplantation rénale en 1992, dont l'évolution est marquée par rejet humoral chronique nécessitant un retour en hémodialyse en 2010. La patiente a bénéficié de plusieurs transfusions et a mené à terme deux grossesses.

Elle est à nouveau inscrite sur liste depuis 2012.

b) Données immunologiques

- Patient

La patiente est de groupe O, son typage HLA est le suivant : A3 A24 B7 B35 DR3 DR4 DQ2 DQ3. Avant le protocole, son TGI était égal à 99%.

- Donneur(s)

1^{ière} greffe (01/08/1992): A1 A3 B7 B8 DR3 DR4

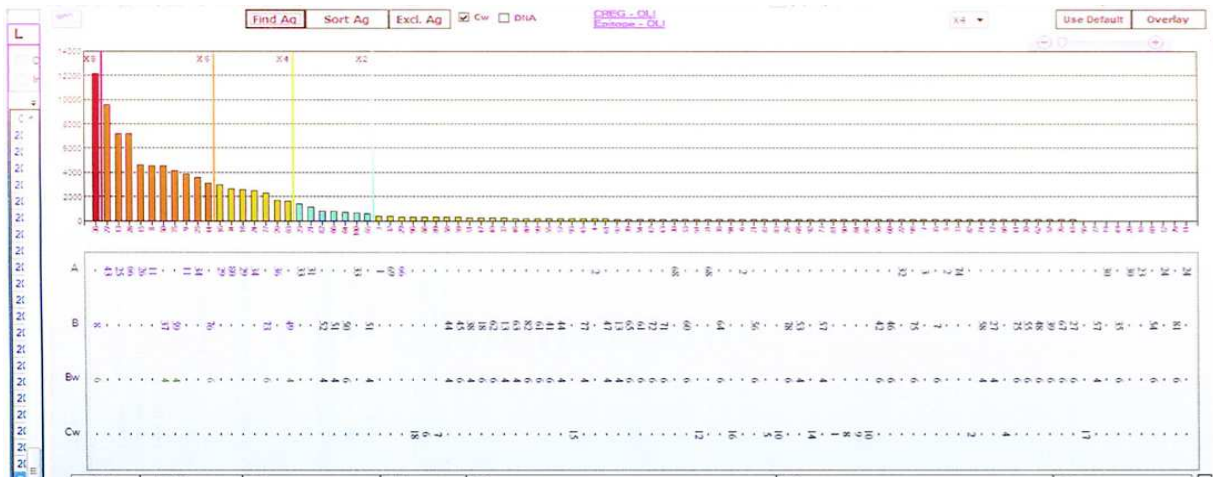
2^{ème} greffe (15/07/2016): A2 A3 B7 B27 Cw2 Cw7 DR8 DR15 DQ4 DQ6 DQA1*01 DQA1*04 DP3 DP4

- Avant le protocole

Les spécificités anti HLA étaient les suivantes,

En classe I :

- **MFI>10000:** B8
- **3000<MFI<10000:** A43 A25 A66 A26 A11 A34 B37 B59 B76
- **1000<MFI<3000:** A29 A80 A36 A33 A31 B73 B49



En classe II :

- **3000<MFI<6000** : DR52 DR9 DR7 **DP4**
- **1000<MFI<3000** : DR12 DQ5 DQA1*01 DP10 DP2 DP18 DP28 DPA1*01 DPA1*02



Les antigènes A32 B22 **B27** B39 B46 B48 B54 B55 B56 B57 B71 75 B81 DR1 DR2 **DR8** DR10 DR13 **DR15** DR16 DR95 faisaient partie des antigènes permis.

c) Déroulement du protocole

Il a débuté le 26/04/2016, marqué par :

- Un épisode de probable migration lithiasique à M1 du début du protocole d'évolution favorable sous antibiothérapie probabiliste.
- Une thrombose de fistule artériovoineuse à J52, qui impose la pose d'un cathéter veineux central.

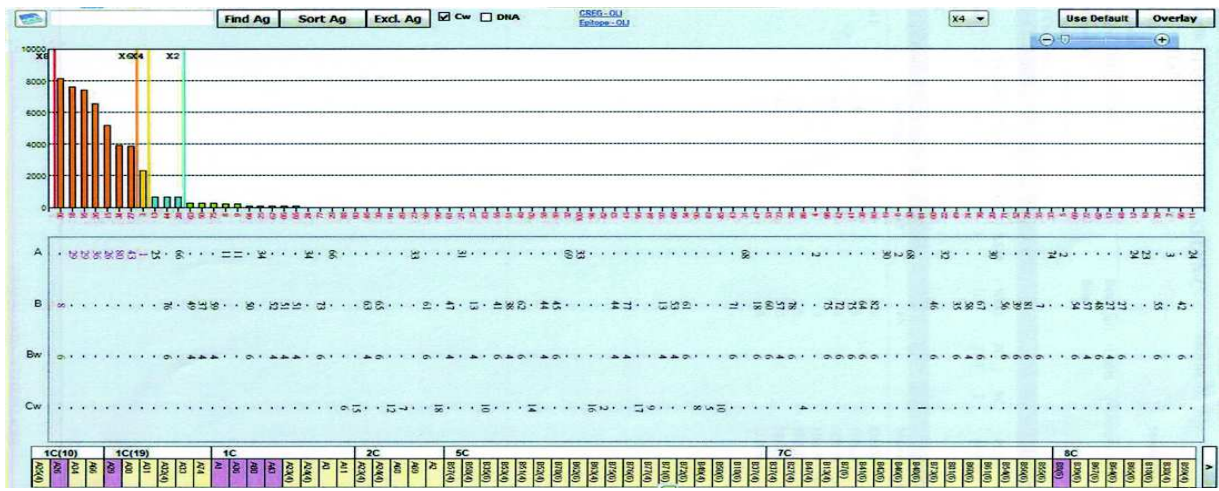
d) Efficacité du protocole

- Globale

Le 04/07/2016 soit à J39 du protocole, on observait les spécificités anti HLA suivantes,

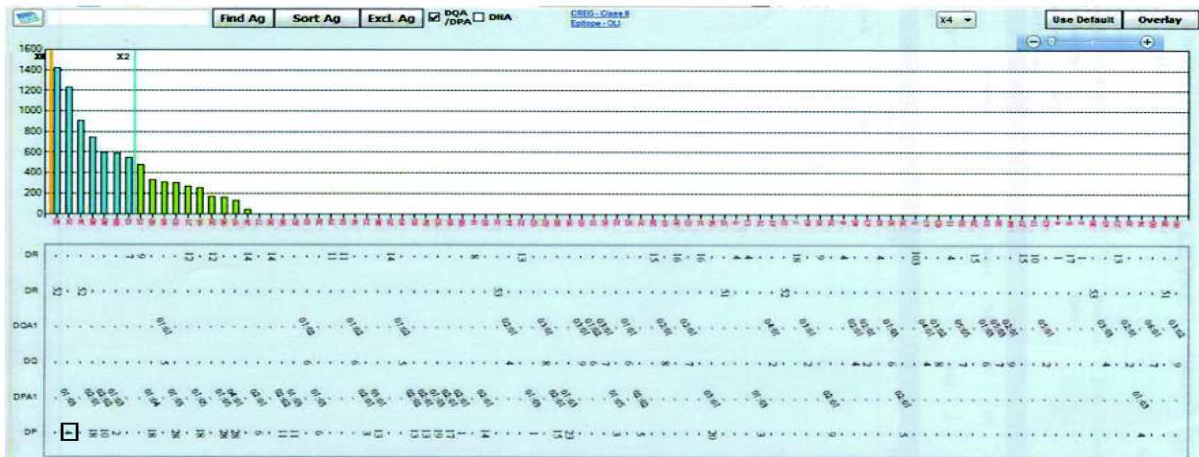
En classe I :

- **MFI>6000** : A36 A29 B8
- **3000<MFI<6000** : A26 A80 A43 A1



En classe II :

- **1000<MFI<3000** : DR52 **DP4**



- Accès à la greffe

Avant le protocole, le seul anticorps anti HLA dirigé contre le futur greffon était un anti DP4 dont la MFI a pu diminuer de 3500 à 1200 (soit une décroissance de 65%). Ici, ce ne sont donc pas les techniques d'aphérèse qui ont permis l'accès à la greffe.

DSA	MFI pré protocole	MFI fin protocole	Décroissance (%)
DP4	3500	1200	66

e) Déroulement de la greffe

La greffe a lieu le 15/07/2016 soit à J59 du protocole de désimmunisation, avec un greffon issu d'un donneur de 57 ans décédé de cause vasculaire. Il existait 2 mismatches en classe I et 4 mismatches en classe II.

f) Evolution

La reprise de fonction du greffon est lente (créatininémie égale à 35 mg/l à J5). A J10, une dégradation de fonction du greffon motive la réalisation d'une ponction biopsie du greffon qui retrouve une microangiopathie artériolo-glomérulaire sans argument pour un rejet (t0 i0 g0 ah1 v0 t0 cg0 ci1 ct1 cv0 mm0

cpt0 selon Banff). Ultérieurement, la fonction du greffon est stable. En juin 2017, la créatininémie est égale à 17 mg/l.

Sur le plan infectieux, le post greffe immédiat est marqué par une pneumopathie infectieuse non documentée traitée de façon probabiliste par Augmentin et Rovamycine, puis d'une bactériémie à *Pseudomonas Areuginosa* à point de départ urinaire traité par Fortum Amiklin relayée par Ciprofloxacine, ainsi que d'une réactivation CMV. En janvier 2017, le diagnostic de zona lombaire est posé, d'évolution favorable sous Aciclovir.

B. Synthèse des données

1. Démographiques

Numéro	Sexe	Age	Néphropathie initiale	Groupe sanguin	Nième greffe	Temps d'attente au moment du protocole	Evènement infectieux pendant le protocole	Evènement autre pendant le protocole
1	F	59	Néphropathie de reflux	A	1	1 an	/	/
2	M	59	Néphropathie de reflux	AB	3	10 ans	sinusites	/
3	M	47	Glomérulonéphrite membrano-proliférative de type II associée à une lipodystrophie de Baraquer-Simons avec C3 NeF	O	2	6 ans	/	/
4	F	51	Néphropathie de reflux	A	2	4 ans et demi	/	/
5	F	39	Néphropathie de reflux	O	3	5 ans	/	/
6	M	52	Syndrome d'Alport	A	2	5 ans	/	/
7	F	51	Néphropathie de reflux	B	3	10 ans	/	/
8	M	67	Dépôts mésangiaux d'IgA	A	4	5 ans	névrite vestibulaire	/
9	F	45	Polykystose hépato rénale	A	2	3 ans et demi	/	anémie
10	F	54	Néphropathie indéterminée	O	2	4 ans	/	thrombose fistule - migration lithiasique

Tableau 1 : Données démographiques.

N°	TGI avant protocole	Source immunisation	HLA greffe(s) antérieure(s)	HLA greffe(s) antérieure(s)	HLA greffe(s) antérieure(s)
1	100%	Concentrés érythrocytaires - Grossesses	/	/	/
2	100%	Greffes antérieures	A2 A192 B13 B39 DR7	A1 A2 B8 B14 DR1 DR15 DQ5 DQ6	/
3	100%	Grefe antérieure - Concentrés érythrocytaires	A1 A29 B8 B39 DR16 DR12	/	/
4	100%	Grefe antérieure	A2 A11 B57 B35 DR11 DR7	/	/
5	95%	Greffes antérieures - Grossesse	A3 A23 B7 B44 DR4 DR15	A26 A11 B38 B27 DR1 DR4 DQ5 DQ7	/
6	96%	Grefe antérieures	A3 B7 B27 DR4	/	/
7	100%	Grossesse - Greffes antérieures	A3 A11 B7 B44 DR4 DR53 DQ3	A11 A24 B57 B62 DR1 DR4 DQ5 DQ8	/
8	100%	Greffes antérieures	A2 A24 B15 B35 DR5	A9 B18 B38 DR1 DR11	A24 A29 B44 B35 DR11 DQ7
9	96%	Grefe antérieure - Grossesses	A2 A30 B13 DR16 DR14 DQ5 DQ7	/	/
10	99%	Grefe antérieure - Grossesses	A1 A3 B7 B8 DR3 DR4	/	/

Tableau 2 : Données immunologiques.

N°	HLA donneur	HLA receveur	Missmatches A B DRB1 DQB1	Missmatches Cw DPB1 DQA1	Missmatches en classe I	Missmatches en classe II	DSA JO désimmunisation (seuil MFI 3000)	DSA JO greffe (seuil MFI 3000)	Accès à la greffe par le protocole
1	A2 A3 B7 B44 DR1 DR4 DQ5 DQ7	A1 A24 B8 B39 DR16 DR9 DQ5 DQ9	6	ND	4	2	A2 B44 B7	/	1
2	A2 B39 B61 DR8 DR10 DQ4 DQ5	A1 A2 B65 B61 DR1 DR16 DQ5 DQ5	4	ND	2	2	/	/	0
3	A2 B44 B62 DR1 DR13 DQ5 DQ6 DP4 DP10	A1 A24 B57 B61 DR11 DR14 DQ3 DQ5	6	ND	3	3	DR1	DR1	1
4	A24 A31 B62 B38 Cw3 Cw12 DR11 DR13 DQ7 DQ6	A1 A68 B62 B38 Cw9 Cw12 DR11 DR13 DQ7 DQ6	6	ND	4	2	/	/	0
5	A11 A29 B35 B- DR7 DR11 DQ2 DQ7 DP2 DP4	A3 A11 B7 B47 DR4 DR7 DQ3 DQ2	4	ND	2	2	/	/	0
6	A26 A29 B8 B44 Cw7 Cw16 DR3 DR4 DQ2 DQ3 DP2 DP4	A2 A31 B60 DR4 DR13 DQ8 DQ6	7	ND	4	3	A26 B8 B44 Cw7 DQ2	DQ2 Cw7	1
7	A23 A31 B44 B62 Cw4 Cw7 DR4 DR7 DQ8 DQ2 DP3 DP4	A2 A24 B44 B62 Cw10 Cw16 DR4 DR7 DQ2 DQ8 DP3 DP4	2	2	2	0	/	/	0
8	A1 A32 B35 Cw4 DR11 DR13 DQ7 DP2 DP4	A24 B35 Cw4 DR11 DQ3 DP3 DP4	4	1	2	2	A1 A32 DQ7	/	1
9	A1 A24 B51 B57 DR13 DQ6	A23 A66 B49 B53 DR4 DR13 DQ3 DQ6	4	ND	4	0	B57	B57	1
10	A2 A3 B7 B27 Cw2 Cw7 DR8 DR15 DQ4 DQ6 DQA1 DQA4 DP3 DP4	A3 A24 B7 B35 DR3 DR4 DQ2 DQ3	6	ND	2	4	DP4	/	0

Tableau 3 : Données immunologiques. ND : non disponible.

N°	Temps d'attente (J)	Reprise de fonction	Nadir creat (mg/l)	Rejet aigu humoral	Délai (J)	Ré ascension DSA	Classe DSA	Apparition DSA	Classe DSA	Rejet humoral chronique	DFG MDRD (ml/min/1,73m2)	Cause perte du greffon	Délai perte du greffon	Suivi
1	77	1	20	1	7	oui	A2 B7 B44	oui	A3	0	/	Rejet aigu humoral	10 jours	60 mois
2	56	1	21	1	15	oui	B39 DR8 DQ4	oui	DR10	1	/	Rejet humoral chronique	29 mois	48 mois
3	19	2	12	1	120	oui	DP10	non	/	0	68	/	/	40 mois
4	16	1	15	0	/	/	/	/	/	0	45	/	/	33 mois
5	38	3	13	1	10	oui	B35 DR11	oui	A29	1	35	/	/	24 mois
6	23	3	30	1	7	oui	B8 B44	non	/	1	23	/	/	21 mois
7	54	0	/	1	0	non	/	non	/	/	/	Rejet hyperaigu	15 jours	18 mois
8	118	0	/	/	/	/	/	/	/	/	/	Thrombose artère du greffon	1 jour	32 mois
9	49	2	13	1	90	oui	B57 A24	oui	A1	1	49	/	/	45 mois
10	59	2	11	0	/	/	/	/	/	0	45	/	/	14 mois

3. Evolution de la greffe

Tableau 4 : Evolution de la greffe. Reprise de fonction du greffon : 0 pas de reprise de fonction, 1 reprise immédiate, 2 reprise lente, 3 reprise retardée.

N°	« Comment avez-vous vécu ce protocole de désimmunisation ? »	« Le referiez-vous ? »
1	« Très bien, j'ai été contente d'être greffée. »	Oui
2	« Le protocole est très fatiguant, j'ai dû arrêter de travailler. J'ai été content d'être greffé rapidement. Il y a eu de nombreuses hospitalisations, j'avais peur du lendemain. J'ai toujours considéré que cela avait été bénéfique car ce protocole m'a permis de me passer de la dialyse, j'avais conscience que c'était le seul moyen d'être greffé. »	Oui
3	Refus	Refus
4	« Cela a été très fatiguant, j'avais conscience que ce protocole était ma seule chance d'être greffée et j'avais l'espoir que ça fonctionne »	Oui
5	« Cela a été très fatiguant. J'ai eu plusieurs moments de découragement. »	Oui
6	« C'était fort dur, fatiguant. »	Oui
7	« Ca a été une période fatigante, sans autre souci particulier. »	Pour l'instant, non.
8	« C'était fatiguant sans autre difficulté. J'ai été déçu que la greffe ne marche pas. »	Oui
9	« Cela a été difficile car il s'agit d'un traitement lourd et fatiguant. »	Oui
10	« C'est un très bon traitement bien qu'un peu contraignant et fatiguant. Il était mon seul espoir de greffe. »	Oui

IV. DISCUSSION

Notre travail s'est intéressé aux résultats des protocoles de désimmunisation en greffe rénale avec donneurs en mort encéphalique parmi les patients hyperimmunisés issus de deux centres français de la zone inter région ouest. Il s'est attaché à faire un constat immunologique et clinique des résultats de cette pratique dans deux centres partageant un protocole similaire de désimmunisation.

A. Protocole de désimmunisation

1. Techniques d'immunoabsorption

Les deux protocoles de Lille et Rouen utilisaient l'immunoabsorption semi-spécifique comme technique d'aphérèse. En revanche, le matériel utilisé différait entre les deux centres : moniteur d'adsorption « Adasorb » et adsorbants « Immunosorba » Fresenius Medical Care à Rouen, machine « Life-18 apheresis unit » Miltenyj Biotec et colonnes « Therasorb-Ig flex adsorber ».

Le premier associe deux moniteurs chargés séparément de l'extraction du plasma puis de l'immunoabsorption grâce à des colonnes chargées de protéines A, le deuxième est constitué d'un moniteur unique regroupant l'extraction et d'immunoabsorption.

La littérature comparant les techniques d'aphérèse entre elles est assez pauvre. La supériorité de l'immunoabsorption par rapport aux échanges plasmatiques est reconnue à travers différents travaux (40). Une étude a montré qu'une séance d'immunoabsorption était aussi efficace sur la diminution des MFI des anticorps anti HLA que trois séances d'échanges plasmatiques, avec une moindre efficacité sur les spécificités de classe II (41).

2. Immunoglobulines polyvalentes

Les Ivlg faisaient partie du protocole Lillois et non Rouennais. Elles étaient administrées à posologie anti infectieuse pendant la période d'aphérèse.

Parmi les 3 patients dont le protocole ne comprenait pas d'Ivlg, on note un épisode de névrite vestibulaire d'étiologie indéterminée chez un patient et plusieurs épisodes de surinfections bronchiques chez un deuxième, contre plusieurs sinusites non documentées chez 1 patient parmi les 7 avec Ivlg. En post-greffe précoce 2 patients Rouennais ont présenté des infections à type de pneumopathies, infections ORL, bactériémie à point de départ urinaire et réactivation CMV ; contre 3 parmi les 7 patient Lillois (deux bactériémies et une pyélonéphrite non compliquée).

L'administration d'Ivlg, particulièrement à forte dose, peut perturber l'interprétation du Luminex, engendrant de faux positifs. Leur demi-vie étant de 30 à 40 jours, il est conseillé d'attendre un mois entre leur administration et tester le sérum en « single antigen ».

3. Rituximab

A Lille, une patiente a bénéficié d'une injection de Rituximab en début de protocole tandis que tous les patients Rouennais recevaient une injection à J0 et J7 de la greffe. Un rejet aigu humoral infra clinique (patiente n°9) était observé parmi les deux patients ayant effectivement reçu 2 injections de Rituximab, contre 6 rejets aigus humoraux parmi les 7 autres patients. Chez cette patiente était tout de même noté une ré-ascension des DSA (anti B57 et anti A24) au moment du rejet, ainsi que l'apparition d'un DSA anti A1. Malgré notre effectif réduit, l'utilisation du Rituximab semble se démarquer par une meilleure prévention du rejet humoral aigu.

Cette molécule permet d'éliminer les cellules B du sang périphérique, jusqu'à 15 mois dans le travail de Genberg *et al.* (42). De par leur fonction de présentation de l'antigène, le Rituximab module également l'activité des cellules T. Il a montré son efficacité dans la prévention du phénomène de rebond des anticorps anti HLA après la greffe (43), y compris chez les patients greffés après désimmunisation (22).

Une étude randomisée a comparé l'utilisation du Rituximab à un placebo chez 281 patients. Une injection de Rituximab au moment de la greffe n'est pas apparue suffisante pour réduire de façon significative l'incidence des rejets aigus humoraux après 6 mois de greffe. En revanche chez les patients

avec un PRA [6-84]% ou un rang de greffe > 1, l'incidence des rejets aigus humoraux était significativement moindre chez ceux traités par Rituximab que chez les patients ayant reçu un placebo, mais sans effet sur la survie ou la fonction du greffon à 4 ans. Par ailleurs, il existait plus de cellules B mémoires (CD19+, CD27+) avant la transplantation chez ces patients considérés à haut risque immunologique dans l'étude (44). En comparaison avec le Daclizumab en traitement d'induction chez des patients non immunisés, Clatworthy *et al.* ont trouvé de façon surprenante plus de rejets aigus humoraux dans le groupe Rituximab (83% versus 14%, $p=0,01$) (45).

L'utilisation du Rituximab avant la greffe doit être prise en compte dans les résultats car cet anti CD20 peut positiver à tort le cross match en lymphocytotoxicité et en cytométrie de flux sur les cellules B.

4. Induction et immunosuppression

Un traitement immunosuppresseur per os était débuté dès le début des séances d'immunoabsorption et poursuivi après la greffe pour tous les patients et était composé d'une trithérapie associant une corticothérapie, un inhibiteur des calcineurines et un inhibiteur de l'inosine monophosphate déshydrogénase. Tous les patients ont reçu une induction par Thymoglobulines.

B. Caractéristiques des patients

1. Caractéristiques de la population

Les étiologies de néphropathie dans notre population étaient variées. Il s'agissait pour 90% des patients d'une greffe de rang > ou = à 2. Leur temps d'attente sur liste avant le début du protocole était prolongé avec une médiane de 5 ans.

2. Immunisation selon les classes

En prenant un seuil de MFI égal à 3000, 95 % de nos patients était immunisé en classe I (A, B), 50 % avait au moins une spécificité anti Cw.

Ces données sont tout à fait superposables à celles de la littérature concernant l'immunisation anti A, anti B et anti Cw (46).

Un peu plus de la moitié (53%) de notre population était immunisée en classe II. L'immunisation anti DR chez nos patients apparaît plus importante que rapportée dans certaines séries avec 80 % de la population présentant une spécificité dans cette classe, suivie par l'immunisation anti DQ (50%) puis anti DP (30%).

3. Origine de l'immunisation

Une étiologie à l'immunisation était retrouvée dans tous les cas. La principale origine d'immunisation de nos patients apparaissait être une ou plusieurs transplantation(s) antérieure(s). 60 % de la population avait une histoire marquée par deux évènements possiblement immunisants, en majorité [greffe + grossesse]. Plusieurs travaux ont mis en évidence une intensité de fluorescence plus élevée des anticorps en classe I et II et une immunisation plus durable en cas d'immunisation après une greffe qu'avec les autres évènements immunisants (47,48). Meir-Kriesh *et al.* se sont aperçus chez presque 16000 patients en attente d'une deuxième greffe que l'augmentation du PRA était proportionnelle au nombre de mismatches lors de la première greffe, particulièrement en A (49). Dans une autre étude, Kosmolipatis *et al.* ont mis en évidence que le mismatch en A était plus pourvoyeur d'immunisation qu'en B ou C, tandis que l'immunisation en classe II était plus forte mais égale parmi les spécificités (50).

C. Efficacité immunologique du protocole

De façon médiane, le protocole a duré 51, 5 jours avec 21,5 séances d'immunoabsorption (6 à 52 séances) dans notre population. Dans la littérature, le temps d'attente après l'initiation d'un protocole de désimmunisation avec donneur décédé varie entre 4 mois après [Ivlg] (32) et 5 à 6 mois après [Ivlg + Rituximab] (33).

Avant le protocole, les MFI des futurs DSA étaient comprises entre 3000 à 17000, avec une médiane à 5500. Les techniques d'aphérèse ont permis une décroissance globale de 69% des classe I et II

confondues. La décroissance semblait plus importante pour les futurs DSA de classe I que pour ceux de classe II (respectivement de 82,5% et 67%). Les données de ce travail confirment que les techniques d'aphérèses associées ou non au Rituximab sont bien efficaces sur l'épuration des anticorps anti HLA. Ce constat vient corroborer les résultats de Rostaing *et al.* sur l'élimination ou la réduction des anticorps anti HLA de type DSA chez 6 patients hyperimmunisés grâce aux séances d'immunoadsorption semi-spécifique (51).

Dans notre étude, les anticorps anti HLA qui avaient une MFI > 10000 en début de protocole apparaissaient efficacement épurés par les techniques d'aphérèse avec une médiane de décroissance de MFI de 71%, contre 75 % pour les anticorps avec des MFI comprises entre 3000 et 10000. Ceci est à pondérer par l'absence d'efficacité du protocole sur un anticorps anti DQ2 qui avait une MFI égale à 17000 en début de protocole (patient n°6). Dans le travail de Rostaing *et al.*, 5 anticorps avec une MFI > 10000 en début de protocole appartenaient à la classe II. Une décroissance de plus de 50% de leur MFI était observée pour 80% d'entre eux. A 1 mois de la greffe, la MFI de 3 de ces 5 DSA était repassée au dessus de 10000.

Au vu des résultats de notre travail, il paraît illusoire avec nos techniques d'éliminer des anticorps anti HLA avec des MFI > 12000 lorsqu'on simule un protocole de désimmunisation.

D. Accès à la greffe

Si nos résultats confirment l'efficacité de ces techniques sur l'épuration des anticorps, nous montrons de façon plus surprenante que l'accès à la greffe de ces patients désimmunisés n'était pas systématiquement médiée par les aphérèses. Ces résultats sont intéressants et pondèrent, s'ils s'étendent aux autres études, les données sur la « désimmunisation artificielle » et ouvrent la réflexion à la « désimmunisation naturelle », dont nous parlerons plus loin dans ce travail.

Bien que par définition un anticorps anti HLA dirigé contre le donneur soit un DSA, l'attribution des greffons prend en compte uniquement la présence d'anticorps anti A, anti B, anti DR, et plus récemment anti DQB1. En France, la présence d'anticorps anti Cw, anti DPB1 et anti DQA1 n'est pas déterminante pour l'attribution des greffons. De façon historique, les anticorps anti Cw et anti DP sont considérés comme moins délétères pour le greffon car leur expression apparaît plus faible que celle

des autres antigènes sur les cellules endothéliales rénales (46). Ces données tendent à évoluer avec l'avènement des techniques solides de détection des anticorps anti HLA qui permettent de les identifier comme d'authentiques DSA.

E. Episodes de rejet

Dans notre cohorte, 7 patients ont présenté un épisode de rejet humoral aigu, dont 4 ont accédé à la greffe grâce au protocole. Quatre patients ont présenté un rejet humoral chronique, tous avaient présenté un rejet humoral aigu. Dans la littérature, la fréquence des rejets après ces protocoles est élevée, variant entre 30 et 40% contre moins de 10% de la population non immunisée (52). La fréquence du rejet aigu humoral dans notre travail était de 78%, bien plus importante que celle rapportée dans la littérature. Cette discordance met non seulement en lumière les particularités de chaque population hyperimmunisée, mais également le « haut risque immunologique » de ces transplantés dès la période post greffe immédiate.

Il est maintenant admis que les DSA jouent un rôle majeur dans le phénomène de rejet à médiation humorale, et de façon moins tranchée dans la glomérulopathie d'allogreffe.

1. Phénomène de rebond des DSA

Au moment du rejet, 86% des patients de notre travail ont présenté une ré-ascension de la MFI des DSA présents avant le protocole. Le nombre médian de ces anticorps était de 2,5 par patient, en grande majorité de classe I avec une MFI médiane égale à 7000. Ce phénomène peut être rattaché à la présence de lymphocytes B mémoires qui, à l'occasion de l'exposition antigénique, deviennent des plasmocytes sécrétant des anticorps après la transplantation. Cette ré-ascension était indépendante de la valeur de base de la MFI pour Burns *et al.* (16), tandis que Lefaucheur *et al.* ont montré que le pic de MFI des DSA plutôt que la MFI au moment du rejet était prédictif d'un épisode de rejet (11).

2. DSA *de novo* et phénomène de rejet

Chez 4 patients était noté l'apparition d'un DSA *de novo* au moment du rejet, en majorité de classe I. Bien que leurs conséquences sur le greffon soient inconstantes, les DSA *de novo* sont reconnus comme

des facteurs de risque majeurs de rejet à médiation humorale et de perte du greffon. Leur incidence varie de 10 à 25 % dans la littérature. Les facteurs de risque identifiés sont l'inobservance, le rejet aigu cellulaire, un/des mismatch(s) de classe II ; sans qu'à ce jour des traitements efficaces soient disponibles (53). Certaines greffes sont marquées par l'apparition d'un DSA *de novo* sans altération de fonction du greffon ni anomalie histologique. Dans une étude rétrospective, Schinstock *et al.* ont trouvé des signes histologiques de rejet aigu humoral chez 25% des patients au moment de la détection d'un DSA *de novo*. A 1 an, ce chiffre augmente à près de 53 % des patients. Ils recommandent un suivi histologique d'au moins 1 an après la détection d'un DSA *de novo*. Ils ont également montré que les patients développant des DSA *de novo* en classe I et II avaient le plus grand risque de perte du greffon. De façon intéressante, le pic de MFI apparaissait comme facteur pronostique (>3000).

Malgré un traitement d'induction par Thymoglobulines +/- Rituximab, les patients de notre étude étaient en mesure de fabriquer des DSA *de novo*. Il serait intéressant d'étudier leurs caractéristiques, en particulier s'ils sont dirigés contre des épitopes partagés avec un/des greffon(s) historique(s).

F. Survie du greffon

Avec 60 % de survie du greffon à 32,5 mois, celle-ci apparaît médiocre, bien que difficilement comparable aux données de la littérature qui s'intéresse surtout aux cas de désimmunisation avec donneurs vivants. Chez les 6 patients ayant conservé leur greffon dans notre travail, le DFG médian estimé en MDRD était égal à 45 ml/min/1,73m² à la date du dernier suivi (suivi médian 32,5 mois) (cf. annexe 1). Dans le travail de Lefaucheur *et al.*, la survie des greffons diminuait avec l'augmentation du pic de MFI des DSA en pré greffe. A 5 ans, la survie du greffon des patients avec des DSA en pré greffe était égale à 71%, supérieure à la survie du greffon à 32,5 mois des patients de cette cohorte (11). Le rejet humoral était dans notre travail la principale cause de perte du greffon (3/4) dont 1 rejet hyperaigu, 1 rejet aigu et 1 rejet humoral chronique. Lefaucheur *et al.* ont montré que le risque de perte du greffon était 4 fois supérieur en cas de rejet aigu humoral comparé aux patients qui ne présentaient pas de rejet (11).

La glomérulopathie d'allogreffe, caractérisée par un épaississement et un aspect en doubles contours des capillaires glomérulaires, est fréquente chez les patients greffés après désimmunisation variant de 20 à 40% selon les séries. Gardant en tête qu'il s'agit d'une lésion associée au rejet humoral chronique, le pronostic d'une glomérulopathie d'allogreffe apparaît pauvre (52).

En France, les mismatches pris en compte dans l'allocation des greffons sont les suivants : A, B, DRB1, DQB1. Il existait de façon médiane 5 mismatches HLA entre donneur et receveur dans notre population (2,5 en classe I et 2 en classe II), ce qui paraît élevé. Dans notre travail, il est difficile de tirer des conclusions quant au nombre de mismatches HLA et la survie du greffon étant donné l'existence de nombreux facteurs confondants. Le patient n°6 greffé avec 7 mismatches avait un greffon toujours fonctionnel à 21 mois, avec une fonction du greffon moyenne (DFG 23 ml/min/1,73m² selon MDRD). La patiente n°2, greffée avec 2 mismatches, a perdu son greffon à l'occasion d'un rejet hyper aigu humoral. Toujours est-il que ces patients à haut risque immunologique se voyaient attribuer un greffon avec de nombreux mismatches HLA, majorant le risque de rejet et de perte du greffon.

En effet, nous savons aujourd'hui que tout mismatch HLA est associé à un risque de moins bonne survie du greffon, avec un risque proportionnel au nombre de mismatches dans certains travaux. Ceci est particulièrement vrai pour un mismatch en DR, cependant moins fréquent car il existe moins d'antigènes codés par le locus DRB1 que pour les loci A ou B (54). La réponse immunologique exacte de chaque mismatch n'est pas connue à l'heure actuelle. L'étude des sérums de 703 patients qui développaient des anticorps anti HLA après transplantation a montré que la spécificité des anticorps variait selon les loci et selon les antigènes de chaque locus. Par ailleurs, la présence chez le receveur d'un antigène présentant une réactivité croisée avec un antigène du donneur réduit la réponse immunologique (55).

G. Infections, évènements indésirables et survie des patients

Gardant en tête qu'il s'agit d'un travail de recueil rétrospectif, nous avons relevé peu d'épisodes infectieux durant le protocole, qu'il comporte des Ivlg ou pas. Ce constat concorde avec la littérature, en exemple cette étude incluant 361 patients dont 170 désimmunisés avec [IVIG+ Rituximab] qui n'a pas mis en évidence de différence en terme d'infections bactériennes et virales (56). Par ailleurs, plusieurs travaux se sont accordés sur l'absence de recrudescence de virémie EBV, CMV ou BKv (57,58). Chez les patients sous Rituximab dans le cadre de maladies hématologiques ou auto-immunes, il est noté l'occurrence de 10 à 50% d'infections particulièrement virales dans les 6 mois (59).

Une patiente a présenté une thrombose de fistule artério-veineuse durant le protocole, aucun autre évènement relatif à une perturbation de l'hémostase n'a été noté. Dans un travail comparant les séances d'hémodialyse seules à des séances d'immunoabsorption associées aux séances

d'hémodialyse, Rostaing *et al.* n'ont pas mis en évidence de différence des paramètres hématologiques entre les groupes (60).

Avec 100 % de survie des patients à 32 mois, la survie des patients après ce protocole apparaît excellente. En revanche, il n'est pas dénué d'effets secondaires parfois invalidants. Tous les patients interrogés ont utilisé le terme « fatiguant » pour caractériser le protocole. Un d'entre eux a dû arrêter de travailler. Les autres qualificatifs utilisés étaient « contraignant », « lourd », « décourageant » et « décevant ». Néanmoins, plusieurs patients ont répondu spontanément qu'il s'agissait du « seul espoir d'être greffé » et de « sortir de dialyse ». Tous les patients interrogés accepteraient de recommencer le protocole, avec une restriction dans le temps pour 1 patiente. Chez ces patients qui ont successivement expérimenté une prise en charge en hémodialyse et en greffe rénale, tout laisse à penser que leur qualité de vie est meilleure en transplantation, et ce malgré le protocole de désimmunisation. Il s'agit cependant d'un traitement lourd et invalidant et le ressenti de chacun plaide en faveur de la nécessité de critères d'inclusion stricts, notamment l'âge < 60 ans et l'absence de comorbidités sévères.

H. Limites

1. Des techniques de détection des anticorps anti HLA

Comme nous l'avons rappelé un peu plus tôt dans ce travail, il n'existe pas de standardisation pour l'interprétation des tests. Il subsiste des variabilités des tests entre les fournisseurs, et une variabilité dans l'interprétation des tests entre les biologistes.

La principale difficulté est l'absence de valeur limite définissant la positivité, dont l'obstacle principal est la variation de densité antigénique des molécules HLA recouvrant les billes. En effet, cette densité à la surface des billes n'est pas forcément égale à la quantité d'antigène à la surface des cellules. La quantité d'anticorps fixé, reflétée par la fluorescence dépend de l'affinité de l'anticorps et de la densité antigénique de la bille. Pour être plus fiable, le suivi de la fluorescence d'un patient devrait s'effectuer sur un même lot de billes et normalisé sur la densité antigénique de la bille. La cinétique des MFI au cours du suivi est donc à interpréter avec prudence. De plus, Il est nécessaire de prendre du recul sur l'application *in vivo* de ces résultats *in vitro*.

2. De la MFI

Nous pouvons nous demander si l'utilisation par les cliniciens de la MFI comme reflet de la « force » d'un anticorps anti HLA ne relève pas d'un « mésusage ». Des anticorps détectés, même à des MFI faibles, sont associés à une moins bonne fonction du greffon ; cette situation pouvant être imputable à des épitopes partagés. Bien qu'un cross match négatif autorise la greffe, la présence de ces anticorps à des MFI faibles prédispose à une réponse anamnesticque après la greffe. Pour aller plus loin, les DSA *de novo* seraient-ils pré existants à la greffe sans être détectés par nos techniques (61) ?

Le « cut-off » de positivité d'un anticorps est défini par chaque laboratoire. Pendant le protocole de désimmunisation, une MFI inférieure à 3000 permet d'ôter la spécificité de l'anticorps sur Cristal, qui devient alors « permis ». Cette limite peut paraître quelque peu arbitraire puisque nous n'avons que peu de données sur la corrélation entre la MFI d'un DSA et la survenue d'un rejet ou la survie du greffon. Une étude de Liu *et al.* a montré qu'un seuil de positivité égal à 2685 et un ratio de MFI déterminé (MFI billes test/ MFI contrôle positif) étaient bien corrélés aux résultats du cross match en lymphocytotoxicité pour les anticorps anti A, B et DR. Le travail de Lefaucheur *et al.* a montré qu'un DSA avec une MFI supérieure à 3000 au moment de la transplantation augmentait de 3,8 fois le risque de perte du greffon comparé aux patients greffés en présence de DSA dont la MFI était inférieure à 3000 (11). De plus, ces seuils devraient être spécifiques de chaque locus.

3. Des scores

Depuis plusieurs années, la situation des receveurs immunisés s'est modifiée grâce à l'utilisation de nouveaux concepts et outils. Tout d'abord le TGI a permis de mieux caractériser la population « hyperimmunisée ». Ensuite, les techniques de détection plus sensibles et la prise en compte des anti DQ ont augmenté la proportion de cette population sur liste.

Les protocoles de « désimmunisation active » s'adressent aux patients avec un TGI > 95 %, notre population regroupait donc des patients avec des TGI très similaires. Le TGI est un score utile en terme de reflet d'attribution des greffons, puisqu'il est le reflet de l'immunisation contre les typages HLA des donneurs des 5 dernières années. Il est néanmoins évident, qu'à TGI égal, le degré d'immunisation

n'est pas le même d'un patient à l'autre. En effet, les patients de ce travail avaient des spécificités anti HLA différentes ainsi qu'un nombre de spécificités anti HLA très variable avant le protocole. Un anticorps dirigé contre un antigène répandu dans la population a, avec ce score, le même impact sur le TGI que plusieurs anticorps moins fréquents. Si le TGI est un score reflétant la difficulté d'accès à la greffe, il n'est pas certain qu'il soit le reflet d'une même poly immunisation.

Cela souligne la difficulté de l'évaluation de l'immunisation d'un patient par un score comme le TGI ou le PRA. Cela nécessiterait la prise en compte des spécificités de chaque anticorps et de leurs caractéristiques : classe I ou II, activation ou non du complément, sous classe d'IgG... ; jusqu'à l'immunocompétence de chacun. Cela permettrait de rendre compte des thérapies nécessaires pour l'accès à la greffe.

4. De notre travail

Notre travail s'est intéressé à une population de 10 patients, limitant l'extrapolation de nos données. Il s'agissait d'une étude rétrospective, impliquant la présence de certains biais notamment de recueil et d'information. Nous n'avons pas comparé les patients inclus à une population contrôle, ce qui ne nous permettait pas de confronter la fréquence des rejets et la survie du greffon à une population « standard ». Les protocoles des deux centres n'étaient pas strictement identiques, bien que cela ne semble pas avoir un impact majeur dans la littérature.

I. Quelles perspectives ?

1. Dans l'allocation des greffons

Pour essayer d'arriver à un compromis entre le nombre de mismatches et la durée d'attente, il conviendrait de sélectionner les donneurs avec des mismatches « à moindre risque » d'induire une réponse humorale du receveur, c'est le concept du « matching épitopique ». Il est maintenant reconnu que la réponse humorale est corrélée au nombre d'acides aminés différents entre les portions distales des molécules HLA du donneur et receveur. Cet épitope est la seule portion de la molécule HLA reconnue par le receveur, caractérisée par son hydrophobicité et son potentiel électrostatique. Les

différents épitopes, du fait du polymorphisme du système HLA peuvent être partagés par plusieurs antigènes.

Le logiciel HLA Matchmaker détermine la spécificité des épitopes des patients hyperimmunisés et compare les mismatches entre les eplets (ou épitopes fonctionnels) du donneur et du receveur, identifiant les polymorphismes de trois acides aminés consécutifs dans un diamètre de 3 angström. La charge épitopique est définie comme le nombre d'eplets (ou épitopes fonctionnels) incompatibles entre donneur et receveur. Seul le typage allélique d'un patient permet de déterminer les épitopes qu'il porte, et donc ceux incompatibles avec le receveur.

2. Immunologiques

Le principe de « désimmunisation naturelle » est basé sur la diminution de la MFI en dessous de 3000 sur au moins un sérum. Passé en dessous de ce seuil, l'antigène correspondant est « décoché » des spécificités interdites. Dans notre travail, 6 patients ont accédé à la greffe grâce à ce procédé, de façon implicite puisque le/les futur(s) DSA avait une MFI inférieure à 3000 juste avant de débiter le protocole de désimmunisation.

Depuis 2016 à Lille, 12 patients avec un TGI compris entre 94 et 100% ont bénéficié de cette pratique. 50% de ces patients ont été greffés, parmi lesquels 2 ont développé un rejet humoral aigu. Au moment du dernier suivi, la survie du greffon est de 67%. Entre 2013 et 2016, 8 patients Rouennais ont été greffés après une désimmunisation « naturelle » avec un TGI variant de 81 à 100% et une médiane de temps d'attente sur liste de 6 ans et 6 mois. Avec un suivi médian de 2 ans, la survie du greffon était de 100 %, tout comme la survie des patients. La créatininémie médiane était égale à 16 mg/l.

Cette procédure, peut être plus « physiologique », semble apporter de meilleurs résultats en terme de survie du greffon, bien que ne garantissant pas l'accès à la greffe. Ces conclusions se rapprochent de certains travaux qui se sont intéressés à la survie du greffon dans le cas de greffes avec présence de DSA à « faibles valeurs », c'est à dire positivant le cross match en cytométrie de flux seulement. Celle-ci était similaire à la survie du greffon de patients greffés sans DSA à 30 mois (15).

La mémoire immunitaire est maintenue grâce à deux populations cellulaires : les plasmocytes et les cellules B mémoires. Ces dernières peuvent exister en dehors de toute détection de DSA dans le sérum, se différenciant après une stimulation antigénique en cellules B productrices d'anticorps. Lucia *et al.*

ont montré une fréquence plus importante de cellules B mémoires spécifiques du donneur chez les patients hyperimmunisés, grâce à un test ELISpot (62). Yabu *et al.* ont tenté de prédire la réponse à une désimmunisation grâce à une technique de cytométrie de flux chez des patients hyperimmunisés. Chez les patients non répondeurs (diminution du cPRA<5%) étaient trouvées moins de cellules B transitionnelles impliquées dans les phénomènes de tolérance et plus de cellules T régulatrices (63). Ces examens pourraient nous aider à mieux appréhender le degré d'immunisation de chaque patient et l'intérêt d'un protocole de désimmunisation.

Un des enjeux pour les années à venir serait de pouvoir distinguer antigénicité, c'est à dire capacité à lier un anticorps anti HLA et immunogénicité, autrement dit la capacité à induire la synthèse d'un anticorps anti HLA spécifique. Ces deux caractéristiques ne sont de toute évidence pas égales en terme de pathogénicité (64). Ces données nous permettront de stratifier au mieux le risque immunologique pour chaque patient immunisé. Après avoir caractériser un anticorps, une détermination au cas par cas du seuil d'interdiction d'un anticorps anti HLA pourra être effectuée.

Les conséquences des anticorps non HLA restent controversées, ces derniers pourraient faire partie du « puzzle » de l'immunisation d'un patient.

3. Thérapeutiques

Plusieurs molécules suscitent l'intérêt pour améliorer l'efficacité de nos protocoles de désimmunisation. Parmi elles se trouvent les agents modulateurs des lymphocytes B comme le Belimumab (inhibe leur prolifération) ou l'Atacicept (neutralise les cytokines qui activent la prolifération). Le Tocilizumab (anticorps monoclonal humanisé anti IL6) a prouvé sa bonne tolérance dans une population de patients hyperimmunisés. Leur efficacité doit encore être démontrée (65).

L'IgG endopeptidase ou IdeS est une enzyme issue de *streptococcus pyogenes* capable de dégrader les 4 classes d'immunoglobulines G. Il s'agit d'une cystéine protéase recombinante qui clive spécifiquement les IgG, utilisée par les bactéries. La zone de clivage appartient à la chaîne lourde de l'immunoglobuline, bloquant la cytotoxicité dépendante du complément et médiée par les anticorps. Un travail a regroupé les données de deux études utilisant l'IdeS en prégreffe chez les patients avec des PRA médians égaux à 95%, avec donneurs vivants ou décédés. En perfusion intraveineuse de 0,24

mg/kg à 0,5 mg/kg, 4 à 6 heures avant la transplantation, cette protéase permet une diminution des anticorps anti HLA et DSA dès 30 minutes et jusqu'à 1 mois de façon significative. Vingt-quatre des 25 patients inclus ont accédé à une greffe. Cinq patients ont présenté un épisode de rejet aigu humoral. Un effet rebond persistait chez les patients qui n'avait pas reçu d'IVIg ni de Rituximab dans leur protocole, en faveur de la persistance d'une réponse anamnestic. Certains effets secondaires étaient attribués à son utilisation : myalgies, infections à parvovirus, bactériémie, infection à point de départ digestif, infection de cathéter (66).

V. CONCLUSION

Les protocoles de « désimmunisation artificielle » offrent depuis quelques années l'espoir d'être transplanté aux patients hyperimmunisés sur liste d'attente d'un donneur décédé.

Pour l'accès à la greffe, notre travail corrobore les données de la littérature en montrant que ces protocoles sont efficaces. Après la greffe, les épisodes de rejets aigus humoraux sont nombreux, parfois imputables à un phénomène de rebond des DSA ou de DSA *de novo*, grevant de façon importante la survie du greffon. Manifestement, certains processus sous-jacents à ces épisodes échappent à nos techniques de détection et ce malgré l'amélioration de leur sensibilité. Cela sous-entend que nous n'avons pas, à l'heure actuelle, réussi à évaluer de façon assez précise ces anticorps et à comprendre les conséquences imputables à ces derniers. La collaboration entre néphrologues et immunologistes est un point décisif pour faire progresser et utiliser pertinemment les outils et molécules, toujours plus nombreux, à notre disposition. L'IdeS apparaît comme une molécule prometteuse dans ce domaine, dont le véritable enjeu se trouve certainement dans le maintien d'une immunotolérance en post greffe.

Dans cette optique, il est absolument nécessaire de standardiser les techniques de dépistage et d'identification des spécificités anti HLA, ceci permettrait d'extrapoler les résultats à travers les centres et les pays.

L'alternative intéressante à ces protocoles « actifs » semble être la désimmunisation « naturelle ». Cette procédure donne de bons résultats en terme de survie du greffon à court et moyen terme chez nos patients. Ces données méritent d'être confirmées de façon prospective par des effectifs plus importants.

BIBLIOGRAPHIE

1. Valenzuela NM, Antibodies in transplantation: the effects of HLA and non-HLA antibody binding and mechanisms of injury. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2013; 1034: 41–70.
2. Terasaki PI, Humoral theory of transplantation: further evidence. *Curr Opin Immunol*. 2005; 17(5): 541–5.
3. Wehmeier C, Donor Specificity but Not Broadness of Sensitization Is Associated With Antibody-Mediated Rejection and Graft Loss in Renal Allograft Recipients. *Am J Transplant Off J Am Soc Transpl Am Soc Transpl Surg*. 2017; 17(8): 2092–102.
4. Einecke G, Antibody-mediated microcirculation injury is the major cause of late kidney transplant failure. *Am J Transplant Off J Am Soc Transpl Am Soc Transpl Surg*. 2009; 9(11): 2520–31.
5. Sellarés J, Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence. *Am J Transplant Off J Am Soc Transpl Am Soc Transpl Surg*. 2012; 12(2): 388–99.
6. Ntokou I-SA, Long-term follow up for anti-HLA donor specific antibodies postrenal transplantation: high immunogenicity of HLA class II graft molecules. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant*. 2011; 24(11): 1084–93.
7. Mohan S, Donor-specific antibodies adversely affect kidney allograft outcomes. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2012; 23(12): 2061–71.
8. Terasaki PI, Four-year follow-up of a prospective trial of HLA and MICA antibodies on kidney graft survival. *Am J Transplant Off J Am Soc Transpl Am Soc Transpl Surg*. 2007; 7(2): 408–15.
9. Schinstock CA, Interpreting Anti-HLA Antibody Testing Data: A Practical Guide for Physicians. *Transplantation*. 2016; 100(8): 1619–28.
10. Terasaki PI, Predicting kidney graft failure by HLA antibodies: a prospective trial. *Am J Transplant Off J Am Soc Transpl Am Soc Transpl Surg*. 2004; 4(3): 438–43.
11. Lefaucheur C, Preexisting Donor-Specific HLA Antibodies Predict Outcome in Kidney Transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 2010; 1;21(8): 1398–406.
12. Caro-Oleas JL, Clinical relevance of anti-HLA donor-specific antibodies detected by Luminex assay in the development of rejection after renal transplantation. *Transplantation*. 2012 ; 27;94(4): 338–44.
13. Tambur AR, Assessing Antibody Strength: Comparison of MFI, C1q, and Titer Information. *Am J Transplant Off J Am Soc Transpl Am Soc Transpl Surg*. 2015; 15(9): 2421–30.
14. Kanter Berga J, Pretransplant donor-specific HLA antibodies detected by single antigen bead

flow cytometry: risk factors and outcomes after kidney transplantation. *Transplant Proc.* 2012; 44(9): 2529–31.

15. Gloor JM, Baseline donor-specific antibody levels and outcomes in positive crossmatch kidney transplantation. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2010; 10(3): 582–9.
16. Burns JM, Alloantibody Levels and Acute Humoral Rejection Early After Positive Crossmatch Kidney Transplantation. *Am J Transplant.* 2008; 1;8(12): 2684–94.
17. Bentall A, Cornell LD, Gloor JM, Park WD, Gandhi MJ, Winters JL, et al. Five-year outcomes in living donor kidney transplants with a positive crossmatch. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2013; 13(1): 76–85.
18. Guidicelli G, Non-Complement-Binding De Novo Donor-Specific Anti-HLA Antibodies and Kidney Allograft Survival. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2016; 27(2): 615–25.
19. Sethi S, Desensitization: Overcoming the Immunologic Barriers to Transplantation. *J Immunol Res.* 2017; 2017(6804678).
20. Jordan SC, Evaluation of Intravenous Immunoglobulin as an Agent to Lower Allosensitization and Improve Transplantation in Highly Sensitized Adult Patients with End-Stage Renal Disease: Report of the NIH IG02 Trial. *J Am Soc Nephrol.* 2004; 1;15(12): 3256–62.
21. Barnett ANR, Rituximab in renal transplantation. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant.* 2013; 26(6): 563–75.
22. Jackson AM, A closer look at rituximab induction on HLA antibody rebound following HLA-incompatible kidney transplantation. *Kidney Int.* 2015; 87(2): 409–16.
23. Schwenger V, Immunoabsorption in nephrology and kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2010; 25(8): 2407–13.
24. Bartel G, Peritransplant immunoabsorption for positive crossmatch deceased donor kidney transplantation. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2010; 10(9): 2033–42.
25. Woodle ES, Prospective iterative trial of proteasome inhibitor-based desensitization. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2015; 15(1): 101–18.
26. Moreno Gonzales MA, 32 Doses of Bortezomib for Desensitization Is Not Well Tolerated and Is Associated With Only Modest Reductions in Anti-HLA Antibody. *Transplantation.* 2017; 101(6): 1222-1227
27. Kwun J, Humoral Compensation after Bortezomib Treatment of Allosensitized Recipients. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2017; 28(7): 1991–6.
28. Stegall MD, Terminal complement inhibition decreases antibody-mediated rejection in sensitized renal transplant recipients. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2011; 11(11): 2405–13.

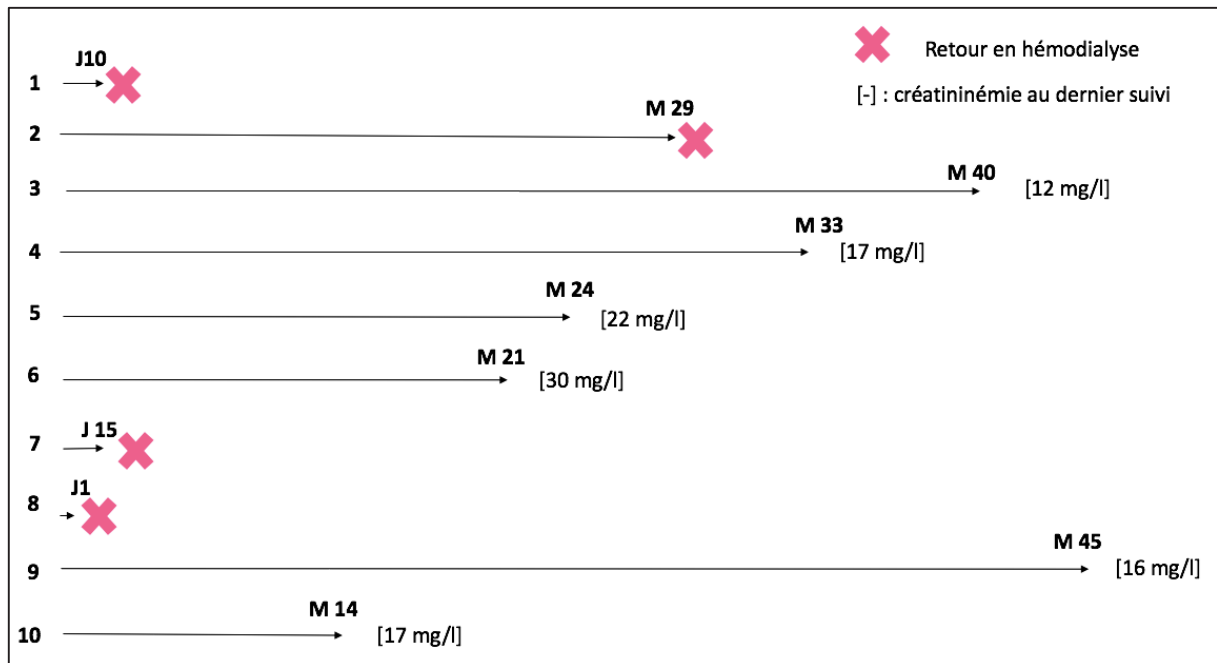
29. Noël C, Daclizumab versus antithymocyte globulin in high-immunological-risk renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2009; 20(6): 1385–92.
30. Webster AC, Interleukin 2 receptor antagonists for kidney transplant recipients. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010; 20(1): CD003897.
31. Glotz D, Desensitization and subsequent kidney transplantation of patients using intravenous immunoglobulins (IVIg). *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2002; 2(8): 758–60.
32. Jordan SC, Intravenous gammaglobulin (IVIg): a novel approach to improve transplant rates and outcomes in highly HLA-sensitized patients. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2006; 6(3): 459–66.
33. Vo AA, Rituximab and intravenous immune globulin for desensitization during renal transplantation. *N Engl J Med*. 2008; 17;359(3): 242–51.
34. Marfo K, Lack of effect in desensitization with intravenous immunoglobulin and rituximab in highly sensitized patients. *Transplantation*. 2012; 27;94(4): 345–51.
35. Jeong JC, Desensitization Using Bortezomib and High-dose Immunoglobulin Increases Rate of Deceased Donor Kidney Transplantation. *Medicine*. 2016; 95(5): e2635.
36. Gloor JM, Overcoming a positive crossmatch in living-donor kidney transplantation. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2003; 3(8): 1017–23.
37. Montgomery RA, Desensitization in HLA-incompatible kidney recipients and survival. *N Engl J Med*. 2011; 28;365(4): 318–26.
38. Orandi BJ, Survival Benefit with Kidney Transplants from HLA-Incompatible Live Donors. *N Engl J Med*. 2016; 10;374(10): 940–50.
39. Manook M, Post-listing survival for highly sensitised patients on the UK kidney transplant waiting list: a matched cohort analysis. *The Lancet*. 2017; 18;389(10070): 727–34.
40. Maillard N, Protein A-Based Immunoabsorption Is More Efficient Than Conventional Plasma Exchange to Remove Circulating Anti-HLA Antibodies. *Blood Purif*. 2015; 40(2): 167–72.
41. Maillard N, Épuration des anticorps anti-HLA : immunoabsorption ou échanges plasmatiques ? *Néphrologie Thérapeutique*. 2012; 1;8(5): 266–7.
42. Genberg H, Pharmacodynamics of rituximab in kidney transplantation. *Transplantation*. 2007; 27;84(12 Suppl): S33-36.
43. Zachary AA, Rituximab prevents an anamnestic response in patients with cryptic sensitization to HLA. *Transplantation*. 2013; 15;95(5): 701–4.
44. Van den Hoogen MWF, Rituximab as Induction Therapy After Renal Transplantation: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study of Efficacy and Safety. *Am J Transplant*. 2015; 1;15(2): 407–16.

45. Clatworthy MR, B-cell-depleting induction therapy and acute cellular rejection. *N Engl J Med.* 2009; 18;360(25): 2683–5.
46. Bachelet T, Anti-HLA donor-specific antibodies are not created equally. Don't forget the flow.... *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant.* 2016; 29(4): 508–10.
47. Hyun J, Effects of different sensitization events on HLA alloimmunization in solid organ transplantation patients. *Transplant Proc.* 2012; 44(1): 222–5.
48. Lopes D, Effect of Different Sensitization Events on HLA Alloimmunization in Kidney Transplantation Candidates. *Transplant Proc.* 2015; 47(4): 894–7.
49. Meier-Kriesche H-U, A lifetime versus a graft life approach redefines the importance of HLA matching in kidney transplant patients. *Transplantation.* 2009; 15;88(1): 23–9.
50. Kosmoliaptsis V, Alloantibody Responses After Renal Transplant Failure Can Be Better Predicted by Donor-Recipient HLA Amino Acid Sequence and Physicochemical Disparities Than Conventional HLA Matching. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2016; 16(7): 2139–47.
51. Rostaing L, Efficacy of immunoadsorption to reduce donor-specific alloantibodies in kidney-transplant candidates. *Exp Clin Transplant Off J Middle East Soc Organ Transplant.* 2015; 13 Suppl (1): 201–6.
52. Marfo K, Desensitization Protocols and Their Outcome. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011; 1;6(4): 922–36.
53. Schinstock CA, The Value of Protocol Biopsies to Identify Patients With De Novo Donor-Specific Antibody at High Risk for Allograft Loss. *Am J Transplant.* 2017; 1;17(6): 1574–84.
54. Zachary AA, HLA Mismatching Strategies for Solid Organ Transplantation – A Balancing Act. *Front Immunol.* 2016; 7 (DEC); 575
55. Lucas DP, Differences in Immunogenicity of HLA Antigens and the Impact of Cross-Reactivity on the Humoral Response. *Transplantation.* 2015; 15;99(1): 77–85.
56. Kahwaji J, Infectious complications in kidney-transplant recipients desensitized with rituximab and intravenous immunoglobulin. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN.* 2011; 6(12): 2894–900.
57. Barbosa D, Polyomavirus BK viremia in kidney transplant recipients after desensitization with IVIG and rituximab. *Transplantation.* 2014 ; 15;97(7): 755–61.
58. Toyoda M, Impact of Desensitization on Antiviral Immunity in HLA-Sensitized Kidney Transplant Recipients. *J Immunol Res.* 2017; 2017(5672523).
59. Salama AD, Drug Insight: rituximab in renal disease and transplantation. *Nat Rev Nephrol.* 2006; 2(4): 221–30.
60. Rostaing L, Efficacy and safety of tandem hemodialysis and immunoadsorption to desensitize kidney transplant candidates. *Exp Clin Transplant Off J Middle East Soc Organ Transplant.* 2015; 13

(Suppl 1): 165–9.

61. Sullivan HC, Understanding solid-phase HLA antibody assays and the value of MFI. *Hum Immunol.* 2017; 78(7–8): 471–80.
62. Lúcia M, Preformed circulating HLA-specific memory B cells predict high risk of humoral rejection in kidney transplantation. *Kidney Int.* 2015; 88(4): 874–87.
63. Yabu JM, Immune Profiles to Predict Response to Desensitization Therapy in Highly HLA-Sensitized Kidney Transplant Candidates. *PloS One.* 2016; 11(4): e0153355.
64. Snanoudj R, New aspects of HLA compatibility in organ transplantation. *Nephrol Ther.* 2016; 12 (Suppl 1): S125-130.
65. Jordan SC, Progress in Desensitization of the Highly HLA Sensitized Patient. *Transplant Proc.* 2016; 48(3): 802–5.
66. Jordan SC, IgG Endopeptidase in Highly Sensitized Patients Undergoing Transplantation. *N Engl J Med.* 2017; 03;377(5): 442–53.

ANNEXES



Annexe 1 : Représentation de l'évolution de la greffe des patients n°1 à 10.

Résumé

Introduction :

Les protocoles de désimmunisation « active » ont permis de donner un espoir d'accéder à la greffe aux patients hyperimmunisés, pour lesquels les priorisations nationales et le programme antigène permis n'étaient pas effectifs. La diversité des protocoles utilisés et l'inégalité de l'immunisation des patients inclus parmi les études disponibles dans la littérature rendent difficiles l'évaluation et l'extrapolation des résultats.

Méthode :

Nous avons réalisé une étude de cohorte rétrospective française afin évaluer la capacité d'épuration des anticorps par ces protocoles, leur efficacité en terme d'accès à la greffe et le devenir des greffons et des patients après la greffe. Les patients inclus entre 2013 et 2016 étaient issus de deux centres français appartenant à la même ZIPR, avec un TGI > 95% avant le protocole. Le protocole de désimmunisation comprenait des séances d'immunoabsorption trois à cinq fois par semaine +/- IvIG. Quatre patients ont reçu du Rituximab. Le suivi des anticorps anti HLA a été réalisé en technique Luminex « single antigen ».

Résultats :

Dix patients ont été inclus, greffés avec un délai médian de 51,5 jours après le début du protocole. La décroissance des MFI des DSA était égale à 82,5 % en classe I et 67 % en classe II. Le protocole a permis l'accès à la greffe dans 100% des cas. Sept patients ont présenté un rejet humoral aigu. Parmi eux, 6 avaient une ré-ascension des DSA épurés par le protocole et 3 présentaient un DSA *de novo*. A 32,5 mois, la survie du greffon et des patients étaient respectivement de 60% et 100%, le DFG médian était égal à 45 ml/min/1,73m². Aucun événement infectieux ni complication hémorragique sévère n'a été relevé durant le protocole.

Discussion :

Il s'agit du premier travail ayant évalué l'efficacité d'un protocole de désimmunisation commun à deux centres français. Les protocoles utilisés à travers les deux centres ont été efficaces sur la décroissance des MFI des anticorps anti HLA de classe I et II, et ont permis l'accès à la greffe des 10 patients inclus. En revanche, la fréquence des rejets aigus humoraux a été plus importante que celle rapportée dans les études de la littérature. La survie du greffon est apparue plutôt médiocre due en grande partie aux conséquences des rejets humoraux. Les patients interrogés ont qualifié ce protocole de « fatiguant », mettant en relief la pénibilité de ce traitement ; mais tous accepteraient de recommencer pour accéder à une greffe.

Conclusion :

En France, la désimmunisation « artificielle » permet aux patients hyperimmunisés d'accéder à une greffe. Devant une fréquence élevée de rejets humoraux et les conséquences en terme de survie du greffon, l'enjeu pour l'avenir apparaît être le maintien d'une tolérance immunitaire après la greffe. Les phénomènes de rebond des DSA ou de DSA *de novo* au moment d'un rejet pourraient être appréhendés par des méthodes de détection des cellules B mémoires, prévenus par une attribution des greffons selon un « matching épitopique », et traités par de nouvelles molécules comme l'IdaS. La désimmunisation « naturelle » offre de bons résultats en terme d'accès à la greffe et de survie du greffon, en faisant une alternative intéressante.

Mots clés : désimmunisation HLA, hyperimmunisation, anticorps anti HLA, transplantation rénale