



HAL
open science

Le tissu adipeux péri-rénal : modèle d'étude de la vasculo-compétence du transplant rénal prélevé chez le donneur âgé à haut risque cardiovasculaire

Bastien Gondran-Tellier

► To cite this version:

Bastien Gondran-Tellier. Le tissu adipeux péri-rénal : modèle d'étude de la vasculo-compétence du transplant rénal prélevé chez le donneur âgé à haut risque cardiovasculaire. Sciences du Vivant [q-bio]. 2019. dumas-02383862

HAL Id: dumas-02383862

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02383862>

Submitted on 28 Nov 2019

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 des sciences
médicales et paramédicales

Aix-Marseille Université

Le tissu adipeux péri-rénal : modèle d'étude de la vasculo-compétence du transplant rénal prélevé chez le donneur âgé à haut risque cardiovasculaire.

T H È S E

Présentée et publiquement soutenue devant

LA FACULTÉ DES SCIENCES MÉDICALES ET PARAMÉDICALES

DE MARSEILLE

Le 11 Octobre 2019

Par Monsieur Bastien GONDRAN-TELLIER

Né le 17 février 1988 à Courbevoie (92)

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

D.E.S. de CHIRURGIE GÉNÉRALE

Membres du Jury de la Thèse :

Monsieur le Professeur LECHEVALLIER Eric

Président

Monsieur le Professeur ROSSI Dominique

Assesseur

Madame le Professeur MOAL Valérie

Assesseur

Monsieur le Docteur BOISSIER Romain

Directeur

Monsieur le Docteur PAUL Pascal

Assesseur



**Faculté des sciences
médicales et paramédicales**

Aix-Marseille Université

**Le tissu adipeux péri-rénal : modèle d'étude de la vasculo-compétence du
transplant rénal prélevé chez le donneur âgé à haut risque cardiovasculaire.**

T H È S E

Présentée et publiquement soutenue devant

LA FACULTÉ DES SCIENCES MEDICALES ET PARAMEDICALES

DE MARSEILLE

Le 11 Octobre 2019

Par Monsieur Bastien GONDRAN-TELLIER

Né le 17 février 1988 à Courbevoie (92)

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

D.E.S. de CHIRURGIE GÉNÉRALE

Membres du Jury de la Thèse :

Monsieur le Professeur LECHEVALLIER Eric

Président

Monsieur le Professeur ROSSI Dominique

Assesseur

Madame le Professeur MOAL Valérie

Assesseur

Monsieur le Docteur BOISSIER Romain

Directeur

Monsieur le Docteur PAUL Pascal

Assesseur

AIX-MARSEILLE UNIVERSITE

Président : Yvon BERLAND

FACULTE DES SCIENCES MEDICALES ET PARAMEDICALES

Doyen Georges LEONETTI

Vice-doyen aux Affaires Générales et aux Sciences Médicales : Patrick DESSI
Vice-doyen aux Sciences Paramédicales : Philippe BERBIS

Direction d'école :

- **Ecole de Médecine** : Jean-Michel VITON
- **Ecoles de Maïeutique** : Carole ZAKARIAN
- **Ecoles des Sciences de la Réadaptation** : Philippe SAUVAGEON
- **Ecoles des Sciences Infirmières** : Sébastien COLSON

Asseseurs :

- aux Etudes : Kathia CHAUMOITRE
- à la Recherche : Jean-Louis MEGE
- aux Prospectives Hospitalo-Universitaires : Frédéric COLLART
- aux Enseignements Hospitaliers : Patrick VILLANI
- à l'Unité Mixte de Formation Continue en Santé : Fabrice BARLESI
- pour le Secteur Nord : Stéphane BERDAH
- aux centres hospitaliers non universitaires : Jean-Noël ARGENSON

Chargés de mission :

- 1^{er} cycle : Jean-Marc DURAND et Marc BARTHET
- 2^{ème} cycle : Marie-Aleth RICHARD
- 3^{ème} cycle DES/DESC : Pierre-Edouard FOURNIER
- Licences-Masters-Doctorat : Pascal ADALIAN
- DU-DIU : Véronique VITTON
- Stages Hospitaliers : Franck THUNY
- Sciences Humaines et Sociales : Pierre LE COZ
- Préparation à l'ECN : Aurélie DAUMAS
- Démographie Médicale et Filiation : Roland SAMBUC
- Relations Internationales : Philippe PAROLA
- Etudiants : Arthur ESQUER

Chef des services généraux : Déborah ROCCHICCIOLI

Chefs de service :

- Communication : Laetitia DELOUIS
- Examens : Caroline MOUTTET
- Intérieur : Joëlle FAVREGA
- Maintenance : Philippe KOCK
- Scolarité : Christine GAUTHIER

DOYENS HONORAIRES

M. Yvon BERLAND
M. André ALI CHERIF
M. Jean-François PELLISSIER

PROFESSEURS HONORAIRES

MM	AGOSTINI Serge	MM	FAVRE Roger
	ALDIGHIERI René		FIECHI Marius
	ALESSANDRINI Pierre		FARNARIER Georges
	ALLIEZ Bernard		FIGARELLA Jacques
	AQUARON Robert		FONTES Michel
	ARGEME Maxime		FRANCOIS Georges
	ASSADOURIAN Robert		FUENTES Pierre
	AUFFRAY Jean-Pierre		GABRIEL Bernard
	AUTILLO-TOUATI Amapola		GALINIER Louis
	AZORIN Jean-Michel		GALLAIS Hervé
	BAILLE Yves		GAMERRE Marc
	BARDOT Jacques		GARCIN Michel
	BARDOT André		GARNIER Jean-Marc
	BERARD Pierre		GAUTHIER André
	BERGOIN Maurice		GERARD Raymond
	BERNARD Dominique		GEROLAMI-SANTANDREA André
	BERNARD Jean-Louis		GIUDICELLI Roger
	BERNARD Pierre-Marie		GIUDICELLI Sébastien
	BERTRAND Edmond		GOUDARD Alain
	BISSET Jean-Pierre		GOUIN François
	BLANC Bernard		GRILLO Jean-Marie
	BLANC Jean-Louis		GRISOLI François
	BOLLINI Gérard		GROULIER Pierre
	BONGRAND Pierre		HADIDA/SAYAG Jacqueline
	BONNEAU Henri		HASSOUN Jacques
	BONNOIT Jean		HEIM Marc
	BORY Michel		HOUEL Jean
	BOTTA Alain		HUGUET Jean-François
	BOURGEADE Augustin		JAQUET Philippe
	BOUVENOT Gilles		JAMMES Yves
	BOUYALA Jean-Marie		JOUVE Paulette
	BREMOND Georges		JUHAN Claude
	BRICOT René		JUIN Pierre
	BRUNET Christian		KAPHAN Gérard
	BUREAU Henri		KASBARIAN Michel
	CAMBOULIVES Jean		KLEISBAUER Jean-Pierre
	CANNONI Maurice		LACHARD Jean
	CARTOUZOU Guy		LAFFARGUE Pierre
	CAU Pierre		LAUGIER René
	CHABOT Jean-Michel		LE TREUT Yves
	CHAMLIAN Albert		LEVY Samuel
	CHARREL Michel		LOUCHET Edmond
	CHAUVEL Patrick		LOUIS René
	CHOUX Maurice		LUCIANI Jean-Marie
	CIANFARANI François		MAGALON Guy
	CLEMENT Robert		MAGNAN Jacques
	COMBALBERT André		MALLAN- MANCINI Josette
	CONTE-DEVOLX Bernard		MALMEJAC Claude
	CORRIOL Jacques		MARANINCHI Dominique
	COULANGE Christian		MARTIN Claude
	DALMAS Henri		MATTEI Jean François
	DE MICO Philippe		MERCIER Claude
	DESSEIN Alain		METGE Paul
	DELARQUE Alain		MICHOTEY Georges
	DEVIN Robert		MILLET Yves
	DEVRED Philippe		MIRANDA François
	DJIANE Pierre		MONFORT Gérard
	DONNET Vincent		MONGES André
	DUCASSOU Jacques		MONGIN Maurice
	DUFOUR Michel		MONTIES Jean-Raoul
	DUMON Henri		NAZARIAN Serge
	ENJALBERT Alain		NICOLI René

MM NOIRCLERC Michel
OLMER Michel
OREHEK Jean
PAPY Jean-Jacques
PAULIN Raymond
PELOUX Yves
PENAUD Antony
PENE Pierre
PIANA Lucien
PICAUD Robert
PIGNOL Fernand
POGGI Louis
POITOUT Dominique
PONCET Michel
POUGET Jean
PRIVAT Yvan
QUILICHINI Francis
RANQUE Jacques
RANQUE Philippe
RICHAUD Christian
RIDINGS Bernard
ROCHAT Hervé
ROHNER Jean-Jacques
ROUX Hubert
ROUX Michel
RUFO Marcel
SAHEL José
SALAMON Georges
SALDUCCI Jacques
SAN MARCO Jean-Louis
SANKALE Marc
SARACCO Jacques
SASTRE Bernard
SCHIANO Alain
SCOTTO Jean-Claude
SEBAHOUN Gérard
SERMENT Gérard
SERRATRICE Georges
SOULAYROL René
STAHL André
TAMALET Jacques
TARANGER-CHARPIN Colette
THOMASSIN Jean-Marc
UNAL Daniel
VAGUE Philippe
VAGUE/JUHAN Irène
VANUXEM Paul
VERVLOET Daniel
VIALETTES Bernard
WEILLER Pierre-Jean

PROFESSEURS HONORIS CAUSA

1967

MM. les Professeurs DADI (Italie)
CID DOS SANTOS (Portugal)

1974

MM. les Professeurs MAC ILWAIN (Grande-Bretagne)
T.A. LAMBO (Suisse)

1975

MM. les Professeurs O. SWENSON (U.S.A.)
Lord J.WALTON of DETCHANT (Grande-Bretagne)

1976

MM. les Professeurs P. FRANCHIMONT (Belgique)
Z.J. BOWERS (U.S.A.)

1977

MM. les Professeurs C. GAJDUSEK-Prix Nobel (U.S.A.)
C.GIBBS (U.S.A.)
J. DACIE (Grande-Bretagne)

1978

M. le Président F. HOUPHOUET-BOIGNY (Côte d'Ivoire)

1980

MM. les Professeurs A. MARGULIS (U.S.A.)
R.D. ADAMS (U.S.A.)

1981

MM. les Professeurs H. RAPPAPORT (U.S.A.)
M. SCHOU (Danemark)
M. AMENT (U.S.A.)
Sir A. HUXLEY (Grande-Bretagne)
S. REFSUM (Norvège)

1982

M. le Professeur W.H. HENDREN (U.S.A.)

1985

MM. les Professeurs S. MASSRY (U.S.A.)
KLINSMANN (R.D.A.)

1986

MM. les Professeurs E. MIHICH (U.S.A.)
T. MUNSAT (U.S.A.)
LIANA BOLIS (Suisse)
L.P. ROWLAND (U.S.A.)

1987

M. le Professeur P.J. DYCK (U.S.A.)

1988

MM. les Professeurs R. BERGUER (U.S.A.)
W.K. ENGEL (U.S.A.)
V. ASKANAS (U.S.A.)
J. WEHSTER KIRKLIN (U.S.A.)
A. DAVIGNON (Canada)
A. BETTARELLO (Brésil)

1989

M. le Professeur P. MUSTACCHI (U.S.A.)

1990

MM. les Professeurs J.G. MC LEOD (Australie)
J. PORTER (U.S.A.)

1991

MM. les Professeurs J. Edward MC DADE (U.S.A.)
W. BURGDORFER (U.S.A.)

1992

MM. les Professeurs H.G. SCHWARZACHER (Autriche)
D. CARSON (U.S.A.)
T. YAMAMURO (Japon)

1994

MM. les Professeurs G. KARPATI (Canada)
W.J. KOLFF (U.S.A.)

1995

MM. les Professeurs D. WALKER (U.S.A.)
M. MULLER (Suisse)
V. BONOMINI (Italie)

1997

MM. les Professeurs C. DINARELLO (U.S.A.)
D. STULBERG (U.S.A.)
A. MEIKLE DAVISON (Grande-Bretagne)
P.I. BRANEMARK (Suède)

1998

MM. les Professeurs O. JARDETSKY (U.S.A.)

1999

MM. les Professeurs J. BOTELLA LLUSIA (Espagne)
D. COLLEN (Belgique)
S. DIMAURO (U. S. A.)

2000

MM. les Professeurs D. SPIEGEL (U. S. A.)
C. R. CONTI (U.S.A.)

2001

MM. les Professeurs P-B. BENNET (U. S. A.)
G. HUGUES (Grande Bretagne)
J-J. O'CONNOR (Grande Bretagne)

2002

MM. les Professeurs M. ABEDI (Canada)
K. DAI (Chine)

2003

M. le Professeur Sir T. MARRIE (Canada)
G.K. RADDI (Grande Bretagne)

2004

M. le Professeur M. DAKE (U.S.A.)

2005

M. le Professeur L. CAVALLI-SFORZA (U.S.A.)

2006

M. le Professeur A. R. CASTANEDA (U.S.A.)

2007

M. le Professeur S. KAUFMANN (Allemagne)

PROFESSEURS EMERITE

2008

M. le Professeur	LEVY Samuel	31/08/2011
Mme le Professeur	JUHAN-VAGUE Irène	31/08/2011
M. le Professeur	PONCET Michel	31/08/2011
M. le Professeur	KASBARIAN Michel	31/08/2011
M. le Professeur	ROBERTOUX Pierre	31/08/2011

2009

M. le Professeur	DJIANE Pierre	31/08/2011
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2012

2010

M. le Professeur	MAGNAN Jacques	31/12/2014
------------------	----------------	------------

2011

M. le Professeur	DI MARINO Vincent	31/08/2015
M. le Professeur	MARTIN Pierre	31/08/2015
M. le Professeur	METRAS Dominique	31/08/2015

2012

M. le Professeur	AUBANIAC Jean-Manuel	31/08/2015
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2015
M. le Professeur	CAMBOULIVES Jean	31/08/2015
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2015
M. le Professeur	MATTEI Jean-François	31/08/2015
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2015
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2015

2013

M. le Professeur	BRANCHEREAU Alain	31/08/2016
M. le Professeur	CARAYON Pierre	31/08/2016
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2016
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2016
M. le Professeur	HENRY Jean-François	31/08/2016
M. le Professeur	LE GUICHAOUA Marie-Roberte	31/08/2016
M. le Professeur	RUF0 Marcel	31/08/2016
M. le Professeur	SEBAHOUN Gérard	31/08/2016

2014

M. le Professeur	FUENTES Pierre	31/08/2017
M. le Professeur	GAMERRE Marc	31/08/2017
M. le Professeur	MAGALON Guy	31/08/2017
M. le Professeur	PERAGUT Jean-Claude	31/08/2017
M. le Professeur	WEILLER Pierre-Jean	31/08/2017

2015

M. le Professeur	COULANGE Christian	31/08/2018
M. le Professeur	COURAND François	31/08/2018
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2016
M. le Professeur	MATTEI Jean-François	31/08/2016
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2016
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2016

2016

M. le Professeur	BONGRAND Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2017
M. le Professeur	BRUNET Christian	31/08/2019
M. le Professeur	CAU Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2017
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2017
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2019
M. le Professeur	JAMMES Yves	31/08/2019
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2019
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2017
M. le Professeur	POITOUT Dominique	31/08/2019
M. le Professeur	SEBAHOUN Gérard	31/08/2017
M. le Professeur	VIALETTES Bernard	31/08/2019

2017

M. le Professeur	ALESSANDRINI Pierre	31/08/2020
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2018
M. le Professeur	CHAUVEL Patrick	31/08/2020
M. le Professeur	COZZONE Pierre	31/08/2018
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2018
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2018
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2018
M. le Professeur	SEBBAHOUN Gérard	31/08/2018

2018

M. le Professeur	MARANINCHI Dominique	31/08/2021
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2019
M. le Professeur	COZZONE Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2019
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2019
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2019

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

AGOSTINI FERRANDES Aubert	CHINOT Olivier	GRIMAUD Jean-Charles
ALBANESE Jacques	CHOSSEGROS Cyrille	GROB Jean-Jacques
ALIMI Yves	<i>CLAVERIE Jean-Michel Surnombre</i>	GUEDJ Eric
AMABILE Philippe	COLLART Frédéric	GUIEU Régis
AMBROSI Pierre	COSTELLO Régis	GUIS Sandrine
ANDRE Nicolas	COURBIERE Blandine	GUYE Maxime
ARGENSON Jean-Noël	COWEN Didier	GUYOT Laurent
ASTOUL Philippe	CRAVELLO Ludovic	GUYS Jean-Michel
ATTARIAN Shahram	CUISSET Thomas	HABIB Gilbert
AUDOUIN Bertrand	CURVALE Georges	HARDWIGSEN Jean
AUQUIER Pascal	DA FONSECA David	HARLE Jean-Robert
AVIERINOS Jean-François	DAHAN-ALCARAZ Laetitia	<i>HOFFART Louis Disponibilité</i>
AZULAY Jean-Philippe	DANIEL Laurent	HOUVENAEGHEL Gilles
BAILLY Daniel	DARMON Patrice	JACQUIER Alexis
BARLESI Fabrice	D'ERCOLE Claude	JOURDE-CHICHE Noémie
BARLIER-SETTI Anne	D'JOURNO Xavier	JOUVE Jean-Luc
BARTHET Marc	DEHARO Jean-Claude	KAPLANSKI Gilles
BARTOLI Christophe	DELAPORTE Emmanuel	KARSENTY Gilles
BARTOLI Jean-Michel	DELPERO Jean-Robert	KERBAUL François
BARTOLI Michel	DENIS Danièle	KRAHN Martin
BARTOLOMEI Fabrice	DISDIER Patrick	LAFFORGUE Pierre
BASTIDE Cyrille	DODDOLI Christophe	LAGIER Jean-Christophe
BENSOUSSAN Laurent	DRANCOURT Michel	LAMBAUDIE Eric
BERBIS Philippe	DUBUS Jean-Christophe	LANCON Christophe
BERDAH Stéphane	DUFFAUD Florence	LA SCOLA Bernard
<i>BERLAND Yvon Surnombre</i>	DUFOUR Henry	LAUNAY Franck
BERNARD Jean-Paul	DURAND Jean-Marc	LAVIEILLE Jean-Pierre
BEROUD Christophe	DUSSOL Bertrand	LE CORROLLER Thomas
BERTUCCI François	EUSEBIO Alexandre	LECHEVALLIER Eric
BLAISE Didier	FAKHRY Nicolas	LEGRE Régis
BLIN Olivier	<i>FAUGERE Gérard Surnombre</i>	LEHUCHER-MICHEL Marie-Pascale
BLONDEL Benjamin	FELICIAN Olivier	LEONE Marc
BONIN/GUILLAUME Sylvie	FENOLLAR Florence	LEONETTI Georges
BONELLO Laurent	FIGARELLA/BRANGER Dominique	LEPIDI Hubert
BONNET Jean-Louis	FLECHER Xavier	LEVY Nicolas
<i>BOTTA/FRIDLUND Danielle Surnom</i>	FOURNIER Pierre-Edouard	MACE Loïc
BOUBLI Léon	<i>FRANCES Yves Surnombre</i>	MAGNAN Pierre-Edouard
BOUFI Mourad	FRANCESCHI Frédéric	<i>MATONTI Frédéric Disponibilité</i>
BOYER Laurent	FUENTES Stéphane	MEGE Jean-Louis
BREGEON Fabienne	GABERT Jean	MERROT Thierry
BRETELLE Florence	GABORIT Bénédicte	METZLER/GUILLEMAIN Catherine
BROUQUI Philippe	GAINNIER Marc	MEYER/DUTOUR Anne
BRUDER Nicolas	GARCIA Stéphane	MICCALEF/ROLL Joëlle
BRUE Thierry	GARIBOLDI Vlad	MICHEL Fabrice
BRUNET Philippe	GAUDART Jean	MICHEL Gérard
BURTEY Stéphane	GAUDY-MARQUESTE Caroline	MICHEL Justin
CARCOPINO-TUSOLI Xavier	GENTILE Stéphanie	MICHELET Pierre
CASANOVA Dominique	GERBEAUX Patrick	MILH Mathieu
CASTINETTI Frédéric	GEROLAMI/SANTANDREA René	MOAL Valérie
CECCALDI Mathieu	GILBERT/ALESSI Marie-Christine	MONCLA Anne
CHAGNAUD Christophe	GIORGI Roch	MORANGE Pierre-Emmanuel
CHAMBOST Hervé	GIOVANNI Antoine	MOULIN Guy
CHAMPSAUR Pierre	GIRARD Nadine	MOUTARDIER Vincent
CHANEZ Pascal	GIRAUD/CHABROL Brigitte	<i>MUNDLER Olivier Surnombre</i>
CHARAFFE-JAUFFRET Emmanuelle	GONCALVES Anthony	NAUDIN Jean
CHARREL Rémi	GORINCOUR Guillaume	NICOLAS DE LAMBALLERIE Xavier
<i>CHARPIN Denis Surnombre</i>	GRANEL/REY Brigitte	NICOLLAS Richard
CHAUMOITRE Kathia	GRANVAL Philippe	OLIVE Daniel
CHIARONI Jacques	GREILLIER Laurent	OUAFIK L'Houcine

PAGANELLI Franck	ROCHE Pierre-Hugues	THOMAS Pascal
PANUEL Michel	ROCH Antoine	THUNY Franck
PAPAZIAN Laurent	ROCHWERGER Richard	TREBUCHON-DA FONSECA Agnès
PAROLA Philippe	ROLL Patrice	TRIGLIA Jean-Michel
<i>PARRATTE Sébastien Disponibilité</i>	ROSSI Dominique	TROPIANO Patrick
PELISSIER-ALICOT Anne-Laure	ROSSI Pascal	TSIMARATOS Michel
PELLETIER Jean	ROUDIER Jean	TURRINI Olivier
PERRIN Jeanne	SALAS Sébastien	VALERO René
PETIT Philippe	<i>SAMBUC Roland Surnombre</i>	VAROQUAUX Arthur Damien
PHAM Thao	SARLES Jacques	VELLY Lionel
PIERCECCHI/MARTI Marie-Dominique	SARLES/PHILIP Nicole	VEY Norbert
PIQUET Philippe	SARLON-BARTOLI Gabrielle	VIDAL Vincent
PIRRO Nicolas	SCAVARDA Didier	VIENS Patrice
POINSO François	SCHLEINITZ Nicolas	VILLANI Patrick
RACCAH Denis	SEBAG Frédéric	VITON Jean-Michel
RANQUE Stéphane	SEITZ Jean-François	VITTON Véronique
RAOULT Didier	SIELEZNEFF Igor	VIEHWEGER Heide Elke
REGIS Jean	SIMON Nicolas	VIVIER Eric
REYNAUD/GAUBERT Martine	STEIN Andréas	XERRI Luc
REYNAUD Rachel	TAIEB David	
RICHARD/LALLEMAND Marie-Aleth	THIRION Xavier	

PROFESSEUR DES UNIVERSITES

ADALIAN Pascal
 AGHABABIAN Valérie
 BELIN Pascal
 CHABANNON Christian
 CHABRIERE Eric
 FERON François
 LE COZ Pierre
 LEVASSEUR Anthony
 RANJEVA Jean-Philippe
 SOBOL Hagay

PROFESSEUR CERTIFIE

BRANDENBURGER Chantal

PRAG

TANTI-HARDOUIN Nicolas

PROFESSEUR ASSOCIE DE MEDECINE GENERALE A MI-TEMPS

ADNOT Sébastien
 FILIPPI Simon

MAITRE DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIEN HOSPITALIER

ACHARD Vincent (<i>disponibilité</i>)	EBBO Mikaël	NGUYEN PHONG Karine
AHERFI Sarah	FABRE Alexandre	NINOVE Laetitia
ANGELAKIS Emmanouil (<i>dispo oct 2018</i>)	FAURE Alice	NOUGAIREDE Antoine
ATLAN Catherine (<i>disponibilité</i>)	FOLETTI Jean- Marc	OLLIVIER Matthieu
BARTHELEMY Pierre	FOUILLOUX Virginie	OVAERT Caroline
BEGE Thierry	FROMNOT Julien	PAULMYER/LACROIX Odile
BELIARD Sophie	GASTALDI Marguerite	PESENTI Sébastien
BERBIS Julie	GELSI/BOYER Véronique	RESSEGUIER Noémie
BERGE-LEFRANC Jean-Louis	GIUSIANO Bernard	REY Marc
BERTRAND Baptiste	GIUSIANO COURCAMBECK Sophie	ROBERT Philippe
BEYER-BERJOT Laura	GONZALEZ Jean-Michel	SABATIER Renaud
BIRNBAUM David	GOURIET Frédérique	SARI-MINODIER Irène
BONINI Francesca	GRAILLON Thomas	SAVEANU Alexandru
BOUCRAUT Joseph	GRISOLI Dominique	SECQ Véronique
BOULAMERY Audrey	GUERIN Carole	SUCHON Pierre
BOULLU/CIOCCA Sandrine	GUENOUN MEYSSIGNAC Daphné	TABOURET Emeline
BUFFAT Christophe	GUIDON Catherine	TOGA Caroline
CAMILLERI Serge	HAUTIER/KRAHN Aurélie	TOGA Isabelle
CARRON Romain	HRAIECH Sami	TOMASINI Pascale
CASSAGNE Carole	KASPI-PEZZOLI Elise	TOSELLO Barthélémy
CHAUDET Hervé	L'OLLIVIER Coralie	TROUSSE Delphine
CHRETIEN Anne-Sophie	LABIT-BOUVIER Corinne	TUCHTAN-TORRENTS Lucile
COZE Carole	LAFAGE/POCHITALOFF-HUVALE Marina	VELY Frédéric
CUNY Thomas	LAGIER Aude (<i>disponibilité</i>)	VION-DURY Jean
DADOUN Frédéric (<i>disponibilité</i>)	LAGOUANELLE/SIMEONI Marie-Claude	ZATTARA/CANNONI Hélène
DALES Jean-Philippe	LEVY/MOZZICONACCI Annie	
DAUMAS Aurélie	LOOSVELD Marie	
DEGEORGES/VITTE Joëlle	MANCINI Julien	
DELLIAUX Stéphane	MARY Charles	
DESPLAT/JEGO Sophie	MASCAUX Céline	
DEVILLIER Raynier	MAUES DE PAULA André	
DUBOURG Grégory	MILLION Matthieu	
DUFOUR Jean-Charles	MOTTOLA GHIGO Giovanna	

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

(mono-appartenants)

ABU ZINEH Mohammad	DEGIOANNI/SALLE Anna	RUEL Jérôme
BARBACARU/PERLES T. A.	DESNUES Benoît	THOLLON Lionel
BERLAND/BENHAIM Caroline	MARANINCHI Marie	THIRION Sylvie
BOUCAULT/GARROUSTE Françoise	MERHEJ/CHAUVEAU Vicky	VERNA Emeline
BOYER Sylvie	MINVIELLE/DEVICTOR Bénédicte	
COLSON Sébastien	POGGI Marjorie	

MAITRE DE CONFERENCES DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

CASANOVA Ludovic
GENTILE Gaëtan

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DE MEDECINE GENERALE à MI-TEMPS

BARGIER Jacques
BONNET Pierre-André
CALVET-MONTREDON Céline
GUIDA Pierre
JANCZEWSKI Aurélie

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE à MI-TEMPS

MATHIEU Marion
REVIS Joana

ANATOMIE 4201

CHAMPSAUR Pierre (PU-PH)
LE CORROLLER Thomas (PU-PH)
PIRRO Nicolas (PU-PH)

GUENOUN-MEYSSIGNAC Daphné (MCU-PH)
LAGIER Aude (MCU-PH) disponibilité

THOLLON Lionel (MCF) (60ème section)

ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES 4203

CHARAFE/JAUFFRET Emmanuelle (PU-PH)
DANIEL Laurent (PU-PH)
FIGARELLA/BRANGER Dominique (PU-PH)
GARCIA Stéphane (PU-PH)
XERRI Luc (PU-PH)

DALES Jean-Philippe (MCU-PH)
GIUSIANO COURCAMBECK Sophie (MCU PH)
LABIT/BOUVIER Corinne (MCU-PH)
MAUES DE PAULA André (MCU-PH)
SECQ Véronique (MCU-PH)

**ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION CHIRURGICALE ;
MEDECINE URGENCE 4801**

ALBANESE Jacques (PU-PH)
BRUDER Nicolas (PU-PH)
LEONE Marc (PU-PH)
MICHEL Fabrice (PU-PH)
VELLY Lionel (PU-PH)

GUIDON Catherine (MCU-PH)

ANGLAIS 11

BRANDENBURGER Chantal (PRCE)

**BIOLOGIE ET MEDECINE DU DEVELOPPEMENT
ET DE LA REPRODUCTION ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5405**

METZLER/GUILLEMAIN Catherine (PU-PH)
PERRIN Jeanne (PU-PH)

BIOPHYSIQUE ET MEDECINE NUCLEAIRE 4301

GUEDJ Eric (PU-PH)
GUYE Maxime (PU-PH)
MUNDLER Olivier (PU-PH) Surnombre
TAIEB David (PU-PH)

BELIN Pascal (PR) (69ème section)
RANJEVA Jean-Philippe (PR) (69ème section)

CAMMILLERI Serge (MCU-PH)
VION-DURY Jean (MCU-PH)

BARBACARU/PERLES Téodora Adriana (MCF) (69ème section)

**BIostatistiques, Informatique Médicale
ET TECHNOLOGIES DE COMMUNICATION 4604**

CLAVERIE Jean-Michel (PU-PH) Surnombre
GAUDART Jean (PU-PH)
GIORGI Roch (PU-PH)

CHAUDET Hervé (MCU-PH)
DUFOUR Jean-Charles (MCU-PH)
GIUSIANO Bernard (MCU-PH)
MANCINI Julien (MCU-PH)

ABU ZAINEH Mohammad (MCF) (5ème section)
BOYER Sylvie (MCF) (5ème section)

ANTHROPOLOGIE 20

ADALIAN Pascal (PR)

DEGIOANNI/SALLE Anna (MCF)
VERNA Emeline (MCF)

BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE 4501

CHARREL Rémi (PU PH)
DRANCOURT Michel (PU-PH)
FENOLLAR Florence (PU-PH)
FOURNIER Pierre-Edouard (PU-PH)
NICOLAS DE LAMBALLERIE Xavier (PU-PH)
LA SCOLA Bernard (PU-PH)
RAOULT Didier (PU-PH)

AHERFI Sarah (MCU-PH)
ANGELAKIS Emmanouil (MCU-PH) disponibilité octobre 2018
DUBOURG Grégory (MCU-PH)
GOURIET Frédérique (MCU-PH)
NOUGAIREDE Antoine (MCU-PH)
NINOVE Laetitia (MCU-PH)

CHABRIERE Eric (PR) (64ème section)
LEVASSEUR Anthony (PR) (64ème section)
DESNUES Benoit (MCF) (65ème section)
MERHEJ/CHAUVEAU Vicky (MCF) (87ème section)

BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE 4401

BARLIER/SETTI Anne (PU-PH)
GABERT Jean (PU-PH)
GUIEU Régis (PU-PH)
OUAFIK L'Houcine (PU-PH)

BUFFAT Christophe (MCU-PH)
FROMNOT Julien (MCU-PH)
MOTTOLA GHIGO Giovanna (MCU-PH)
SAVEANU Alexandru (MCU-PH)

BIOLOGIE CELLULAIRE 4403

ROLL Patrice (PU-PH)

GASTALDI Marguerite (MCU-PH)
KASPI-PEZZOLI Elise (MCU-PH)
LEVY-MOZZICONNACCI Annie (MCU-PH)

CARDIOLOGIE 5102

AVIERINOS Jean-François (PU-PH)
BONELLO Laurent (PU PH)
BONNET Jean-Louis (PU-PH)
CUISSSET Thomas (PU-PH)
DEHARO Jean-Claude (PU-PH)
FRANCESCHI Frédéric (PU-PH)
HABIB Gilbert (PU-PH)
PAGANELLI Franck (PU-PH)
THUNY Franck (PU-PH)

CHIRURGIE DIGESTIVE 5202

BERDAH Stéphane (PU-PH)
HARDWIGSEN Jean (PU-PH)
SIELEZNEFF Igor (PU-PH)

BEYER-BERJOT Laura (MCU-PH)

CHIRURGIE GENERALE 5302

DELPERO Jean-Robert (PU-PH)
MOUTARDIER Vincent (PU-PH)
SEBAG Frédéric (PU-PH)
TURRINI Olivier (PU-PH)

BEGE Thierry (MCU-PH)
BIRNBAUM David (MCU-PH)

CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE 5002

ARGENSON Jean-Noël (PU-PH)
 BLONDEL Benjamin (PU-PH)
 CURVALE Georges (PU-PH)
 FLECHER Xavier (PU PH)
PARRATTE Sébastien (PU-PH) Disponibilité
 ROCHWERGER Richard (PU-PH)
 TROPIANO Patrick (PU-PH)

OLLIVIER Matthieu (MCU-PH)

CANCEROLOGIE ; RADIOTHERAPIE 4702

BERTUCCI François (PU-PH)
 CHINOT Olivier (PU-PH)
 COWEN Didier (PU-PH)
 DUFFAUD Florence (PU-PH)
 GONCALVES Anthony (PU-PH)
 HOUVENAEGHEL Gilles (PU-PH)
 LAMBAUDIE Eric (PU-PH)
 SALAS Sébastien (PU-PH)
 VIENS Patrice (PU-PH)

SABATIER Renaud (MCU-PH)
 TABOURET Emeline (MCU-PH)

CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE 5103

COLLART Frédéric (PU-PH)
 D'JOURNO Xavier (PU-PH)
 DODDOLI Christophe (PU-PH)
 GARIBOLDI Vlad (PU-PH)
 MACE Loïc (PU-PH)
 THOMAS Pascal (PU-PH)

FOUILLOUX Virginie (MCU-PH)
 GRISOLI Dominique (MCU-PH)
 TROUSSE Delphine (MCU-PH)

CHIRURGIE VASCULAIRE ; MEDECINE VASCULAIRE 5104

ALIMI Yves (PU-PH)
 AMABILE Philippe (PU-PH)
 BARTOLI Michel (PU-PH)
 BOUFI Mourad (PU-PH)
 MAGNAN Pierre-Edouard (PU-PH)
 PIQUET Philippe (PU-PH)
 SARLON-BARTOLI Gabrielle (PU PH)

HISTOLOGIE, EMBRYOLOGIE ET CYTOGENETIQUE 4202

LEPIDI Hubert (PU-PH)

ACHARD Vincent (MCU-PH) disponibilité
 PAULMYER/LACROIX Odile (MCU-PH)

DERMATOLOGIE - VENEREOLOGIE 5003

BERBIS Philippe (PU-PH)
 GAUDY/MARQUESTE Caroline (PU-PH)
 GROB Jean-Jacques (PU-PH)
 RICHARD/LALLEMAND Marie-Aleth (PU-PH)

DUSI

COLSON Sébastien (MCF)

ENDOCRINOLOGIE ,DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5404

BRUE Thierry (PU-PH)
 CASTINETTI Frédéric (PU-PH)
 CUNY Thomas (MCU PH)

EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE ET PREVENTION 4601

AUQUIER Pascal (PU-PH)
 BOYER Laurent (PU-PH)
 GENTILE Stéphanie (PU-PH)
SAMBUC Roland (PU-PH) Surnombre
 THIRION Xavier (PU-PH)

BERBIS Julie (MCU-PH)
 LAGOUANELLE/SIMEONI Marie-Claude (MCU-PH)
 RESSEGUIER Noémie (MCU-PH)

MINVIELLE/DEVICTOR Bénédicte (MCF)(06ème section)
 TANTI-HARDOUIN Nicolas (PRAG)

CHIRURGIE INFANTILE 5402

GUYS Jean-Michel (PU-PH)
 JOUVE Jean-Luc (PU-PH)
 LAUNAY Franck (PU-PH)
 MERROT Thierry (PU-PH)
 VIEHWEGER Heide Elke (PU-PH)
 FAURE Alice (MCU PH)
 PESENTI Sébastien (MCU-PH)

CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE ET STOMATOLOGIE 5503

CHOSSEGROS Cyrille (PU-PH)
 GUYOT Laurent (PU-PH)

FOLETTI Jean-Marc (MCU-PH)

CHIRURGIE PLASTIQUE, RECONSTRUCTRICE ET ESTHETIQUE ; BRÛOLOGIE 5004

CASANOVA Dominique (PU-PH)
 LEGRE Régis (PU-PH)

BERTRAND Baptiste (MCU-PH)
 HAUTIER/KRAHN Aurélie (MCU-PH)

GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE ; ADDICTOLOGIE 5201

BARTHET Marc (PU-PH)
 BERNARD Jean-Paul (PU-PH)
BOTTA-FRIDLUND Danielle (PU-PH) Surnombre
 DAHAN-ALCARAZ Laetitia (PU-PH)
 GEROLAMI-SANTANDREA René (PU-PH)
 GRANDVAL Philippe (PU-PH)
 GRIMAUD Jean-Charles (PU-PH)
 SEITZ Jean-François (PU-PH)
 VITTON Véronique (PU-PH)

GONZALEZ Jean-Michel (MCU-PH)

GENETIQUE 4704

BEROUD Christophe (PU-PH)
 KRAHN Martin (PU-PH)
 LEVY Nicolas (PU-PH)
 MONCLA Anne (PU-PH)
 SARLES/PHILIP Nicole (PU-PH)

NGYUEN Karine (MCU-PH)
 TOGA Caroline (MCU-PH)
 ZATTARA/CANNONI Héléne (MCU-PH)

GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5403

AGOSTINI Aubert (PU-PH)
 BOUBLI Léon (PU-PH)
 BRETELLE Florence (PU-PH)
 CARCOPINO-TUSOLI Xavier (PU-PH)
 COURBIERE Blandine (PU-PH)
 CRAVELLO Ludovic (PU-PH)
 D'ERCOLE Claude (PU-PH)

IMMUNOLOGIE 4703

KAPLANSKI Gilles (PU-PH)
 MEGE Jean-Louis (PU-PH)
 OLIVE Daniel (PU-PH)
 VIVIER Eric (PU-PH)

FERON François (PR) (69ème section)

BOUCRAUT Joseph (MCU-PH)
 CHRETIEN Anne-Sophie (MCU PH)
 DEGEORGES/VITTE Joëlle (MCU-PH)
 DESPLAT/JEGO Sophie (MCU-PH)
 ROBERT Philippe (MCU-PH)
 VELY Frédéric (MCU-PH)

BOUCAULT/GARROUSTE Françoise (MCF) 65ème section)

MALADIES INFECTIEUSES ; MALADIES TROPICALES 4503

BROUQUI Philippe (PU-PH)
 LAGIER Jean-Christophe (PU-PH)
 PAROLA Philippe (PU-PH)
 STEIN Andréas (PU-PH)

MILLION Matthieu (MCU-PH)

MEDECINE D'URGENCE 4805

KERBAUL François (PU-PH)
 MICHELET Pierre (PU-PH)

**MEDECINE INTERNE ; GERIATRIE ET BIOLOGIE DU
 VEILLISSEMENT ; MEDECINE GENERALE ; ADDICTOLOGIE 5301**

BONIN/GUILLAUME Sylvie (PU-PH)
 DISDIER Patrick (PU-PH)
 DURAND Jean-Marc (PU-PH)
FRANCES Yves (PU-PH) Surnombre
 GRANEL/REY Brigitte (PU-PH)
 HARLE Jean-Robert (PU-PH)
 ROSSI Pascal (PU-PH)
 SCHLEINITZ Nicolas (PU-PH)

EBBO Mikael (MCU-PH)

GENTILE Gaëtan (MCF Méd. Gén. Temps plein)

ADNOT Sébastien (PR associé Méd. Gén. à mi-temps)
 FILIPPI Simon (PR associé Méd. Gén. à mi-temps)

BARGIER Jacques (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)
 BONNET Pierre-André (MCF associé Méd. Gén à mi-temps)
 CALVET-MONTREDON Céline (MCF associé Méd. Gén. à temps plein)
 GUIDA Pierre (MCF associé Méd. Gén. à mi-temps)
 JANCZEWSKI Aurélie (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

NUTRITION 4404

DARMON Patrice (PU-PH)
 RACCAH Denis (PU-PH)
 VALERO René (PU-PH)

ATLAN Catherine (MCU-PH) disponibilité
 BELIARD Sophie (MCU-PH)

MARANINCHI Marie (MCF) (66ème section)

ONCOLOGIE 65 (BIOLOGIE CELLULAIRE)

CHABANNON Christian (PR) (66ème section)
 SOBOL Hagay (PR) (65ème section)

IMMUNOLOGIE ; TRANSFUSION 4701

BLAISE Didier (PU-PH)
 COSTELLO Régis (PU-PH)
 CHIARONI Jacques (PU-PH)
 GILBERT/ALESSI Marie-Christine (PU-PH)
 MORANGE Pierre-Emmanuel (PU-PH)
 VEY Norbert (PU-PH)

DEVILLIER Raynier (MCU PH)
 GELSI/BOYER Véronique (MCU-PH)
 LAFAGE/POCHITALOFF-HUVALE Marina (MCU-PH)
 LOOSVELD Marie (MCU-PH)
 SUCHON Pierre (MCU-PH)

POGGI Marjorie (MCF) (64ème section)

MEDECINE LEGALE ET DROIT DE LA SANTE 4603

BARTOLI Christophe (PU-PH)
 LEONETTI Georges (PU-PH)
 PELISSIER-ALICOT Anne-Laure (PU-PH)
 PIERCECCHI-MARTI Marie-Dominique (PU-PH)

TUCHTAN-TORRENTS Lucile (MCU-PH)

BERLAND/BENHAIM Caroline (MCF) (1ère section)

MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION 4905

BENSOUSSAN Laurent (PU-PH)
 VITON Jean-Michel (PU-PH)

MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL 4602

LEHUCHER/MICHEL Marie-Pascale (PU-PH)

BERGE-LEFRANC Jean-Louis (MCU-PH)
 SARI/MINODIER Irène (MCU-PH)

NEPHROLOGIE 5203

BERLAND Yvon (PU-PH) Surnombre
 BRUNET Philippe (PU-PH)
 BURTEY Stéphanne (PU-PH)
 DUSSOL Bertrand (PU-PH)
 JOURDE CHICHE Noémie (PU PH)
 MOAL Valérie (PU-PH)

NEUROCHIRURGIE 4902

DUFOUR Henry (PU-PH)
 FUENTES Stéphane (PU-PH)
 REGIS Jean (PU-PH)
 ROCHE Pierre-Hugues (PU-PH)
 SCAVARDA Didier (PU-PH)

CARRON Romain (MCU PH)
 GRAILLON Thomas (MCU PH)

NEUROLOGIE 4901

ATTARIAN Sharham (PU PH)
 AUDOIN Bertrand (PU-PH)
 AZULAY Jean-Philippe (PU-PH)
 CECCALDI Mathieu (PU-PH)
 EUSEBIO Alexandre (PU-PH)
 FELICIAN Olivier (PU-PH)
 PELLETIER Jean (PU-PH)

OPHTALMOLOGIE 5502

DENIS Danièle (PU-PH)
 HOFFART Louis (PU-PH) *Disponibilité*
 MATONTI Frédéric (PU-PH) *Disponibilité*

PEDEPSYCHIATRIE; ADDICTOLOGIE 4904

DA FONSECA David (PU-PH)
 POINSO François (PU-PH)

OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE 5501

DESSI Patrick (PU-PH)
 FAKHRY Nicolas (PU-PH)
 GIOVANNI Antoine (PU-PH)
 LAVIEILLE Jean-Pierre (PU-PH)
 MICHEL Justin (PU-PH)
 NICOLLAS Richard (PU-PH)
 TRIGLIA Jean-Michel (PU-PH)
 DEVEZE Arnaud (MCU-PH) *Disponibilité*
 REVIS Joana (MAST) (Orthophonie) (7ème Section)

**PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE -
PHARMACOLOGIE CLINIQUE; ADDICTOLOGIE 4803**

BLIN Olivier (PU-PH)
 FAUGERE Gérard (PU-PH) *Surnombre*
 MICALLEF/ROLL Joëlle (PU-PH)
 SIMON Nicolas (PU-PH)
 BOULAMERY Audrey (MCU-PH)

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE 4502

RANQUE Stéphane (PU-PH)

PHILOSOPHIE 17

LE COZ Pierre (PR) (17ème section)

CASSAGNE Carole (MCU-PH)
 L'OLLIVIER Coralie (MCU-PH)
 MARY Charles (MCU-PH)
 TOGA Isabelle (MCU-PH)

MATHIEU Marion (MAST)

PEDIATRIE 5401

ANDRE Nicolas (PU-PH)
 CHAMBOST Hervé (PU-PH)
 DUBUS Jean-Christophe (PU-PH)
 GIRAUD/CHABROL Brigitte (PU-PH)
 MICHEL Gérard (PU-PH)
 MILH Mathieu (PU-PH)
 REYNAUD Rachel (PU-PH)
 SARLES Jacques (PU-PH)
 TSIMARATOS Michel (PU-PH)

PHYSIOLOGIE 4402

BARTOLOMEI Fabrice (PU-PH)
 BREGEON Fabienne (PU-PH)
 GABORIT Bénédicte (PU-PH)
 MEYER/DUTOUR Anne (PU-PH)
 TREBUCHON/DA FONSECA Agnès (PU-PH)

COZE Carole (MCU-PH)
 FABRE Alexandre (MCU-PH)
 OVAERT Caroline (MCU-PH)
 TOSELLO Barthélémy (MCU-PH)

BARTHELEMY Pierre (MCU-PH)
 BONINI Francesca (MCU-PH)
 BOULLU/CIOCCA Sandrine (MCU-PH)
 DADOUN Frédéric (MCU-PH) (*disponibilité*)
 DELLIAUX Stéphane (MCU-PH)
 REY Marc (MCU-PH)

PSYCHIATRIE D'ADULTES ; ADDICTOLOGIE 4903

BAILLY Daniel (PU-PH)
 LANCON Christophe (PU-PH)
 NAUDIN Jean (PU-PH)

RUEL Jérôme (MCF) (69ème section)
 THIRION Sylvie (MCF) (66ème section)

PSYCHOLOGIE - PSYCHOLOGIE CLINIQUE, PCYCHOLOGIE SOCIALE 16

AGHABABIAN Valérie (PR)

PNEUMOLOGIE; ADDICTOLOGIE 5101**RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE 4302**

BARTOLI Jean-Michel (PU-PH)
 CHAGNAUD Christophe (PU-PH)
 CHAUMOITRE Kathia (PU-PH)
 GIRARD Nadine (PU-PH)
 GORINCOUR Guillaume (PU-PH)
 JACQUIER Alexis (PU-PH)
 MOULIN Guy (PU-PH)
 PANUEL Michel (PU-PH)
 PETIT Philippe (PU-PH)
 VAROQUAUX Arthur Damien (PU-PH)
 VIDAL Vincent (PU-PH)

ASTOUL Philippe (PU-PH)
 BARLESI Fabrice (PU-PH)
 CHANEZ Pascal (PU-PH)
 CHARPIN Denis (PU-PH) *Surnombre*
 GREILLIER Laurent (PU PH)
 REYNAUD/GAUBERT Martine (PU-PH)

MASCAUX Céline (MCU-PH)
 TOMASINI Pascale (MCU-PH)

REANIMATION MEDICALE ; MEDECINE URGENCE 4802

GAINNIER Marc (PU-PH)
 GERBEAUX Patrick (PU-PH)
 PAPAZIAN Laurent (PU-PH)
 ROCH Antoine (PU-PH)

THERAPEUTIQUE; MEDECINE D'URGENCE; ADDICTOLOGIE 4804

AMBROSI Pierre (PU-PH)
 VILLANI Patrick (PU-PH)

HRAIECH Sami (MCU-PH)

DAUMAS Aurélie (MCU-PH)

RHUMATOLOGIE 5001

GUIS Sandrine (PU-PH)
 LAFFORGUE Pierre (PU-PH)
 PHAM Thao (PU-PH)
 ROUDIER Jean (PU-PH)

UROLOGIE 5204

BASTIDE Cyrille (PU-PH)
 KARSENTY Gilles (PU-PH)
 LECHEVALLIER Eric (PU-PH)
 ROSSI Dominique (PU-PH)

Remerciements

A mesdames et messieurs les membres du jury :

Monsieur le Professeur Lechevallier, merci de m'avoir accueilli dans votre service pour mes premiers pas en urologie et merci de m'avoir conforté dans ce choix de spécialité. Votre rigueur dans le travail est un exemple pour nous tous.

Monsieur le Professeur Rossi, merci pour votre enseignement lors mon passage dans votre service et votre accueil en urologie.

Madame le Professeur Moal, merci pour votre expertise apportée à mon travail de thèse.

Madame le Docteur Paul, Pascale, un immense merci pour cette très belle année. Je suis plus qu'heureux d'avoir découvert avec toi les rouages de la recherche. Merci pour ton accueil, ta disponibilité et ton aide précieuse dans les moments de rush !

Monsieur le Docteur Boissier, Romain, merci de m'avoir lancé dans la poursuite de tes travaux ! Merci également pour ton enseignement lors de mes passages dans le service !

A toutes celles et tous ceux rencontrés pendant mon internat

Aux urologues qui m'ont tant appris :

Dr Delaporte, Dr Gaillet, Pr Karsenty, Dr Faïs, Dr Albert, Dr Pignot, Pr Bastide, Dr Toledano, Dr Rybikowski, Dr Walz.

A tous les autres médecins qui ont contribué à ma formation.

A mes chefs :

A Jean-François, mon premier assistant, et à notre franche amitié.

A Charlotte, Akram, Karim, Thibault, Romain, Yohan, Stéphanie et Philippe en urologie. Vous avez tous été au top! A tous les autres!

A mes co-internes

A ces 5 ans de soutien mutuel et ces moments très particuliers ! Aux amitiés nées de ces rencontres.

A l'équipe de thérapie cellulaire et du C2VN

A Luc, Chloé, Houssein, Laurent A, Laurent G, Patricia, Stéphanie, Pauline, Marie, Florence. Merci infiniment pour votre accueil plus que chaleureux ! Une pensée particulière pour Julien !

A mes amis parisiens:

Ludo et Alex, mes amis d'enfance, merci pour votre soutien indéfectible ! A vos compagnes et désormais amies également, Caroline et Lena. A vos enfants et à nos vacances entre papas à venir ! A Pierre et Valentin et nos souvenirs de lycée !

A la plus grosse bande de joyeux lurons qui existe, rencontrés à la faculté de médecine. Adrien C, Arthur P, Arthur G, Paul, Victor, Blue, Guy, Charles, Eloi, Philippe, Martin, Pierre E, Pierre S, Gitan, Legouge, PC, Cresta, Alexandre, Mathieu, Panda et bien d'autres. A nos innombrables heures passées sur les terrains de rugby qui ont réussi à nous faire tenir à la BU!

Aux marseillais

Diego, Alex, Charlotte, Max, Romain et Nassima ! A notre amitié sincère ! A nos WBA ! A vos enfants! Pierre, Morgane et Basile, ne repartez pas ! Michael et nos soirées Excel. Lysa et Gauthier, Pierre-Emmanuel et Violaine, j'en passe et des meilleurs !

A ma famille

Merci à mes parents pour leur soutien pendant toutes ces années. Merci de m'avoir encouragé dans mon projet d'étude, merci pour tous les moments merveilleux en famille.

A mes sœurs Gaëlle, Aude et Flore et mon frère Victor, le premier Docteur Gondran-Tellier ! A mes beaux-frères Renaud et Julien ! A mes neveux Matisse, Bérénice, Titouan, Elisa, Tristan et Eline !

Aux innombrables cousins, oncles et tantes !

A ma belle-famille, merci de m'avoir accueilli parmi vous !

A Oscar, mon fils né le mois dernier, le plus beau de tous et déjà un bonheur de tous les jours !

A Céline, ma compagne pour la vie. Tu as eu le courage de traverser avec moi ces longues années d'étude de la P1 jusqu'à maintenant. Merci pour ton soutien de tous les jours, merci d'être à mes côtés ! A notre famille ! Je t'aime !

Table des matières

Introduction.....	3
Histoire chirurgicale de la transplantation rénale.....	3
Etat des lieux de la transplantation rénale en France.....	10
Impact du vieillissement et des comorbidités cardiovasculaires du donneur sur la vasculo-compétence du transplant.....	16
Les lésions d'ischémie-reperfusion, des mécanismes complexes	18
La perfusion sur machine hypothermique protège l'endothélium du transplant.....	19
La biopsie rénale préimplantatoire, une méthode invasive d'exploration de l'endothélium du transplant	21
Le tissu adipeux péri-rénal, un tissu en étroite interaction avec le rein.	23
La fraction vasculaire stromale comme modèle d'étude non invasif de l'endothélium	24
Objectifs.....	28
Matériels et méthodes	29
Approche méthodologique	29
Autorisation de traitement des déchets opératoires issus des prélèvements d'organes	31
Recueil des données des receveurs	31
Recueil des données du donneurs.....	31
Suivi de la reprise précoce de fonction du transplant.....	31
Prélèvement de la graisse péri-rénale.....	31
Prélèvement du liquide de conservation.....	32
Extraction de la fraction vasculaire stromale issue de la graisse péri-rénale	32
Matériel supplémentaire utilisé pour l'étude	33
Analyse phénotypique de la FVS et des lignées endothéliales	33
Purification de l'ARN et quantification par rtPCR quantitative des transcrits	34
Test fonctionnel d'angiogenèse in vitro	34
Analyse de la sénescence cellulaire.....	35
Analyse de l'apoptose cellulaire	36
Dosage quantitatif de l'IL6 soluble dans les LC par méthode ELISA.....	36
Analyses statistiques.....	37
Résultats.....	38
I. Caractérisation de la fraction vasculaire stromale issue du tissu adipeux péri-rénal des donneurs cadavériques.....	38

I.1 Caractéristiques des donneurs et des receveurs	38
I.2 - Analyse phénotypique des sous-populations de la FVS-TAP	42
I.3 Analyse du potentiel angiogénique de la FVS-TAP	44
I.4 Analyse en PCR quantitative des transcrits liés à l'inflammation et la senescence endothéliale au sein de la FVS-TAP.....	46
II. Caractérisation de lignées endothéliales <i>ECFC</i> issues de la FVS-TAP.....	47
II.1 Analyse phénotypique des lignées endothéliales issues de la FVS-TAP	47
II.2 Evaluation de l'activité angiogénique de lignées endothéliales issues de donneur ECD et non ECD	49
III. Evaluation de l'effet paracrine de facteurs contenus dans le liquide de conservation sur les <i>ECFC</i> issus de la FVS-TAP	51
III.1 Dosage de la cytokine inflammatoire Interleukine-6 dans les liquides de conservation des transplants.....	51
III.2 Altération du profil phénotypique et transcriptionnel de l'endothélium en réponse aux liquides de conservation	53
III.3 Evaluation de la sénescence endothéliale en réponse aux liquides de conservation	55
III.4 Evaluation de l'apoptose endothéliale en réponse aux liquides de conservation	55
III.5 Modulation du marqueur d'activation endothéliale ICAM-1 par la protéine Klotho	57
Discussion	58
Conclusion.....	62
Liste des abréviations.....	63
Liste des figures et tableaux	64
Valorisation de ce travail.....	66
Références bibliographiques	67
Annexes.....	74

Introduction

Histoire chirurgicale de la transplantation rénale

L'histoire de la transplantation rénale débute par la description de la suture vasculaire et de ses principes. Les barbiers chirurgiens puis les chirurgiens avaient observé que le saignement actif des gros vaisseaux était un obstacle majeur à la prise en charge des patients et qu'il était toujours léthal sauf si un garrot pouvait être appliqué. Jusqu'au milieu du 16^{ème} siècle, en Europe du nord, on pratiquait la cautérisation au fer rouge ou à l'huile bouillante. Ambroise Paré, chirurgien des champs de bataille et souvent considéré comme père de la chirurgie moderne, trouvait cette méthode barbare et mit au point la ligature des artères lors des amputations de membres.

La réparation artérielle, sans ligature, était un autre défi et préalable indispensable à la transplantation. Alexander Jassinowsky de Vienne publia en 1889 sa thèse de médecine sur ses travaux de réparation des artères carotides de chiens et de chevaux. Il y décrivait des réparations à points séparés après toutes sortes d'artériotomie. En 1894, Abbe, un chirurgien newyorkais, décrivit des prothèses intubantes en verre pour réparer des artères de chiens et de chats. Plus tard furent décrits d'autres dispositifs intubant mais cette fois en matériaux résorbables comme le magnésium ou encore le caramel.

Il faut attendre 1902 et le docteur Alexis Carrel (1873 - 1944), chirurgien et biologiste français, considéré comme pionnier de la chirurgie vasculaire, pour voir naître les anastomoses vasculaires termino-terminales et termino-latérales sans interposition de tubes prothétiques. Il utilisait alors l'artifice de la triangulation, encore utilisé à ce jour pour permettre une parfaite exposition de la lumière des vaisseaux (1). Il compléta ses travaux sur les sutures vasculaires par des auto-transplantations de reins et de glandes thyroïdes sur des modèles canins. Il écrivit alors à propos de ses travaux :

« Cette transplantation consiste à prendre une glande, corps thyroïde ou rein, par exemple, à l'enlever avec son artère et sa veine, puis à greffer ces vaisseaux sur un autre point de l'appareil circulatoire. Simple curiosité opératoire aujourd'hui, la transplantation d'une glande pourra peut-être un jour avoir un intérêt pratique ».

Il ne se doutait alors sûrement pas que plus tard cette « simple curiosité opératoire » deviendrait une révolution dans la prise en charge de nombreuses pathologies.

C'est à Emerich Ulmann (1861 - 1937), un chirurgien né en Hongrie et exerçant à Vienne, que l'on doit les premiers cas rapportés d'auto, d'homo et de xenotransplantation chez le chien et la chèvre. Il réalisa même en 1902 la première tentative de transplantation d'un rein de porc à une femme qui présentait une insuffisance rénale terminale (2).

En janvier 1906, Mathieu Jaboulay (1860 - 1913), le maître d'Alexis Carrel, réalisa une xenotransplantation d'un rein de porc à une receveuse humaine urémique et hypertendue de 48 ans. Le site d'implantation alors choisi était le pli du coude gauche avec une anastomose termino-latérale entre l'artère du transplant et l'artère humérale. L'uretère, quant à lui, était abouché à la peau. Ce rein excréta environ 1,5 litres d'urines avant de finalement se thromboser et être explanté. En avril 1906, il retenta l'expérience chez une patiente humaine binéphrectomisée pour pyonéphrose mais cette fois à partir d'un rein de chèvre. Cette nouvelle transplantation connut les mêmes résultats malheureux que la première.

C'est finalement Alexis Carrel qui connut en 1908 le premier succès de transplantation rénale avec une implantation en position orthotopique chez un chien binéphrectomisé. Il reçut en 1912 le prix Nobel de physiologie et médecine pour ses travaux. Il fut finalement couvert d'opprobre pour son soutien au parti Nazi et ses convictions eugénistes soutenues dans *l'homme, cet inconnu* publié en 1935.

Il faut attendre le 3 avril 1933 et Yurii Voronoy (1895 -1961), un chirurgien soviétique et fils d'un illustre mathématicien, pour voir à Kiev la première transplantation d'un rein humain chez une femme de 26 ans qui venait de tenter de se suicider en ingérant du mercure (3). Le donneur était décédé d'un arrêt cardiaque et le transplant avait connu plusieurs heures d'ischémie chaude. La transplantation fut réalisée par anastomose sur les vaisseaux fémoraux et le rein excréta de l'urine pendant 48 heures avant une anurie brutale. La jeune receveuse décéda finalement quelques heures plus tard.

Ces tentatives de transplantation se multiplièrent à partir de 1945 avec des travaux rapportés à Boston (pour traitement d'une insuffisance rénale aigue) et à Chicago en 1950 (pour prise en charge d'une polykystose rénale). En janvier 1951, à Paris, furent réalisées de nouvelles tentatives. Les reins d'un condamné à mort par guillotine furent greffés par Dubost (1914 – 1991), plus connu pour être le premier chirurgien au monde à avoir opéré avec succès un anévrysme de l'aorte abdominale et réalisé pour la

première fois en Europe une transplantation cardiaque avec succès, et Oeconomos d'une part et Servelle et Rougueulle d'autre part, à deux receveuses insuffisantes rénales chroniques terminales. Les patientes décèderont finalement à 17 et 20 jours post opératoires. Quelques jours plus tard, René Küss (1913 - 2006) fit une tentative de transplantation chez une patiente urémique à partir d'un rein prélevé chez un donneur vivant présentant une lésion urétérale. Elle décéda à un mois post-opératoire.

Des échecs successifs de René Küss (3 autres tentatives de transplantation à partir de donneurs vivants néphrectomisés pour pathologies urologiques) naîtra la technique de transplantation rénale hétérotopique en fosse iliaque, site d'implantation toujours privilégié aujourd'hui (4). Il fonda par ailleurs en 1971 la première société scientifique dédiée à la transplantation : La Société Française de Transplantation.(5)



Figure 1. Dessin de René Küss datant du 6 novembre 1960 schématisant la technique originale de transplantation rénale en fosse iliaque. La description initiale de la technique comprenait une anastomose artérielle termino-terminale entre l'artère iliaque interne du receveur et l'artère du transplant.

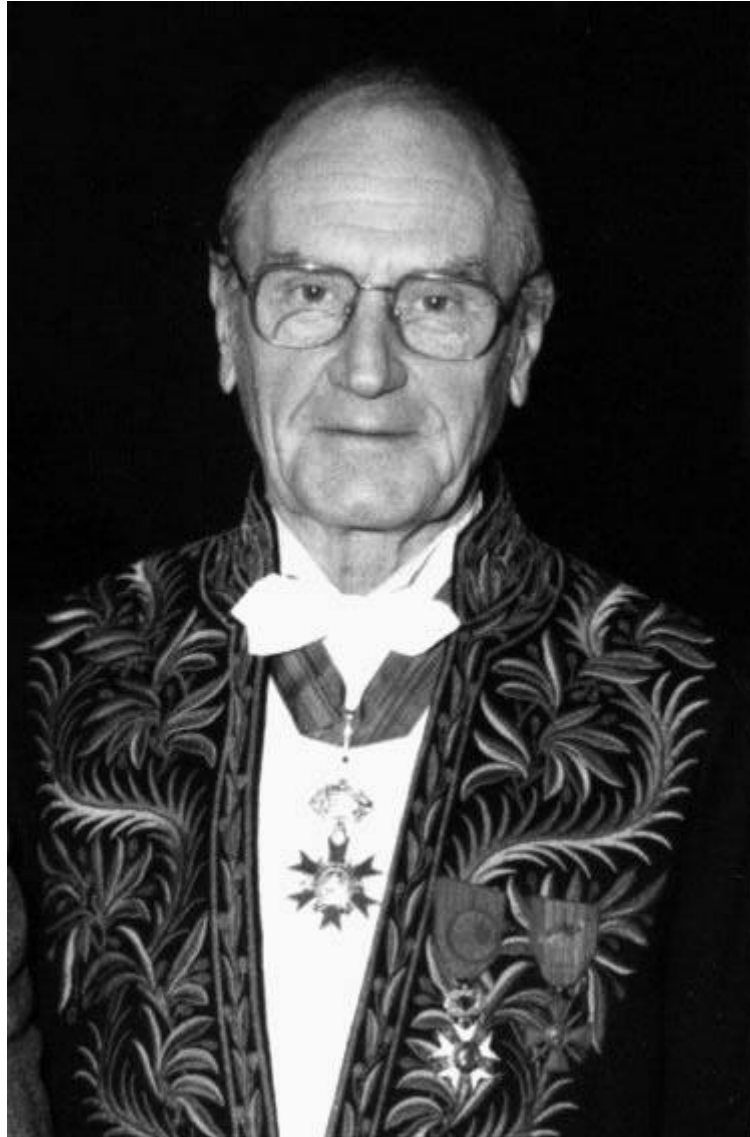


Figure 2. *Portrait de René Küss (1913 – 2006), Secrétaire général (1952 - 1979) puis président (1979 - 1985) de la Société Internationale d'Urologie et fondateur en 1971 de la Société Française de Transplantation. Considéré comme l'un des pionniers de la transplantation rénale.*

De 1951 à 1952, ces tentatives de transplantation se multiplièrent en Grande-Bretagne, au Canada et aux Etats-Unis avec notamment l'équipe de Boston qui après avoir échangé avec les équipes françaises pionnières dans ce domaine investirent des moyens considérables dans la réalisation de ces transplantations et l'étude des causes de leurs échecs. Ainsi fut réalisée en mars 1951 la première transplantation chez un patient dialysé. S'en suivirent 8 autres, dont 7 étaient ABO compatibles ou identiques avec 5 échecs immédiats et 3 secondaires à 2 mois post-opératoires.

Le 25 janvier 1952, à Paris, fut réalisée par Vaysse et Oecomonos la première transplantation rénale à partir d'un donneur vivant volontaire apparenté. Le receveur s'appelait Marius Renard, jeune homme de 16 ans qui chuta d'un échafaudage sur un chantier à Beauvais. Il bénéficia en urgence d'une néphrectomie droite d'hémostase par le Dr Varin. En post opératoire, Marius ne reprit pas de diurèse et le diagnostic d'anéphrie fut posé : il avait un rein unique congénital. C'est ainsi que la mère de Marius, Gilberte Renard, après avoir supplié Jean Hamburger (1909 -1992), donna un rein pour tenter de sauver son fils. La chirurgie fut un succès, tant au niveau de la néphrectomie, réalisée par lombotomie, que de la greffe réalisée quant à elle en fosse iliaque droite. Le rein excréta rapidement 1,5L par jour avant une nouvelle anurie brutale le 16 janvier 1953. Marius mourut quelques jours plus tard et sa mère en 1992.

Le premier vrai succès de transplantation rénale eut lieu à Boston au Peter Bent Brigham Hospital par Joseph E Murray (1919 - 2012, prix Nobel de physiologie ou médecine) le 23 décembre 1954. Il s'agissait là encore d'un don vivant apparenté mais cette fois chez de vrais jumeaux : les frères Herrick. Ronald donna donc son rein à son frère Richard qui souffrait d'une insuffisance rénale chronique avec hypertension artérielle, secondaire à une glomérulonéphrite d'origine indéterminée. Richard décéda 8 ans plus tard, le 14 mars 1963 d'une récurrence de sa pathologie rénale. Son frère décéda en 2010.

En 1958, Jean Dausset (1916 - 2009, prix Nobel de physiologie ou médecine) découvrit le complexe majeur d'histocompatibilité et apporta les premières évidences que la réussite de la greffe d'organes chez des vrais jumeaux était liée à la parfaite identité des antigènes d'histocompatibilité chez le donneur et le receveur. Dès lors, à partir de 1959, naissaient les transplantations allogéniques apparentées non jumeaux. Le protocole d'immunosuppression utilisé alors était une irradiation corporelle totale,

avec des succès jusqu'à 24 ans post-transplantation mais des effets secondaires néfastes.

En 1959, Pierre Mollaret (1898 - 1987) et Maurice Goulon (1919 - 2008) définirent les signes du coma dépassé sur une série de patients sans activité cérébrale et incapables de respirer seuls (6). La description de ces signes de mort encéphalique ouvrait alors la voie au prélèvement cadavérique.

C'est Fred Rapper, un urologue britannique, qui réussit cette année-là, la première transplantation rénale issue d'un donneur en mort encéphalique. Cette dernière signait par ailleurs le début de l'utilisation des immunosuppresseurs (7) et ainsi l'essor de la transplantation rénale. Ainsi, en 1963 Thomas Earl Starzl (1926 - 2017) exposait les excellents résultats d'une série de transplantations chez des receveurs traités par l'association d'Azathioprine et de Cortisone (8) .

En 1966, Flemming Kissmeyer-Nielsen décrivit la mise en place de la méthode des « cross-match » qui fut mise en pratique et constamment améliorée par l'équipe de Terasaki. Cela constitua un outil et une avancée fondamentale dans la lutte contre le rejet suraigu du transplant. L'avènement de nouveaux immunosuppresseurs, leurs associations thérapeutiques et l'introduction précoce des anticorps polyclonaux et monoclonaux dans les traitements d'induction permirent ensuite d'améliorer encore les résultats de ces chirurgies et ouvraient ainsi la voie à un très large recours à la transplantation.

Etat des lieux de la transplantation rénale en France

L'insuffisance rénale chronique terminale (IRCT) est une pathologie particulièrement grave dont l'incidence et la prévalence sont en augmentation constante (9).

En effet, les données issues du rapport du registre R.E.I.N (Réseau, Epidémiologie, Information, Néphrologie) nous montrent qu'en France 7 à 10 % de la population présente une atteinte rénale et qu'une partie de ces patients va évoluer vers une pathologie terminale nécessitant un traitement de suppléance par dialyse ou encore par transplantation rénale. Ce rapport note une augmentation de l'incidence de l'insuffisance rénale chronique terminale traitée de 1,2% par an entre 2012 et 2017. On estimait donc qu'au 31 décembre 2017, 87 275 patients étaient déjà traités pour une IRCT dont 45% par transplantation et 55% par une méthode de dialyse.

De plus, la mortalité spécifique de cette pathologie est particulièrement élevée avec, en 2017, plus de 1,2 millions de décès dans le monde (10). Par ailleurs, cette pathologie touche une population de plus en plus âgée, avec une proportion de patients âgés de plus de 75 ans développant une IRCT ayant triplé au cours des 30 dernières années.

La principale cause de décès des patients insuffisants rénaux terminaux traités est cardiovasculaire et représente en France 23% des causes de décès chez ces patients, suivie par les causes infectieuses (13%) et les cancers (10%). Il est même désormais admis que l'insuffisance rénale constitue à elle seule un facteur de risque cardiovasculaire indépendant (11).

La transplantation rénale est aujourd'hui le traitement de référence puisqu'elle est associée à une augmentation de la survie (12), de la qualité de vie (13) et une baisse du coût pour la société par rapport au maintien en dialyse (14). En effet, d'après le rapport R.E.I.N, un patient transplanté de la tranche d'âge 30 à 34 ans présente une espérance de vie moyenne de 31 ans contre seulement 17 ans pour un patient du même âge maintenu en dialyse. Ces excellents résultats de la greffe sont également observés chez le receveur âgé de plus de 65 ans voire 70.

Ceci a donc conduit ces dernières années à considérer cette population de receveurs âgés comme de vrais candidats à la greffe élargissant ainsi considérablement le nombre de candidats éligibles à la transplantation rénale.

Le nombre de patients sur liste d'attente est donc en augmentation constante avec, entre 2012 et 2017, une augmentation de 21,5% soit 934 nouveaux patients inscrits en 2017 portant le total à 18 793 patients en attente. Pour les malades inscrits entre 2012 et 2017, la durée médiane d'attente avant transplantation est de 32,4 mois. Cette moyenne est réduite à 19,7 mois en ne considérant plus que les malades sur la liste active, c'est-à-dire sans contre-indication temporaire à la greffe. Ces chiffres pointent donc du doigt un véritable problème d'accès à la transplantation rénale pour ces malades, justifié par une problématique de disponibilité de transplants.



Rapport annuel REIN 2017 : Synthèse

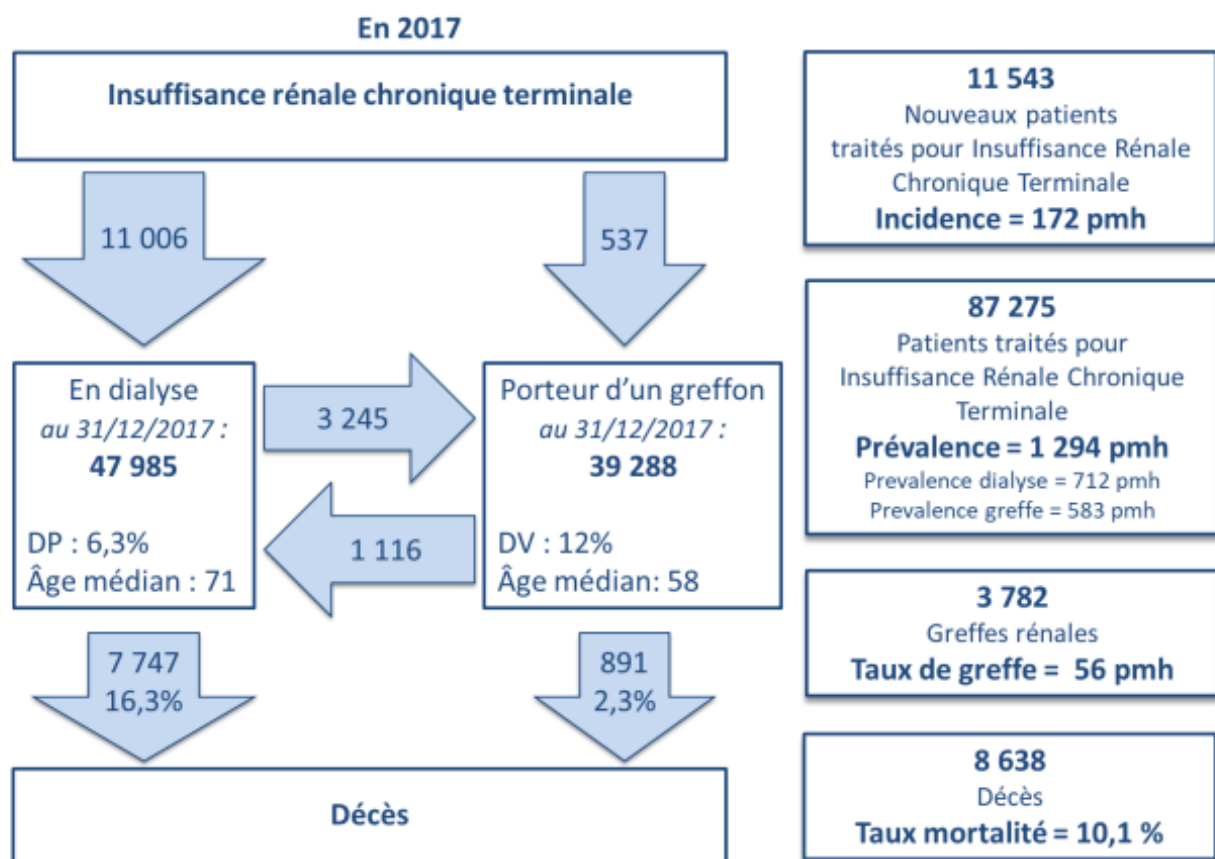


Figure 3. Synthèse du rapport annuel R.E.I.N 2017. Figure issue du rapport annuel du réseau REIN.

Conséquence de la pénurie de transplants, en 2017 en France il y avait 5 candidats à la greffe pour un transplant disponible (vs 4,1 candidats pour un transplant disponible en 2010). Les stratégies mises en place actuellement visent à favoriser d'une part le don vivant, et d'autre part à élargir les critères de sélection des transplants avec le recours aux donneurs ECD (pour « *Extended Criteria Donors* ») ou DDAC (pour donneur décédé après arrêt circulatoire, inopiné ou après limitation des soins).

Les donneurs ECD ont été définis à partir de l'étude de données rétrospectives issues du registre nord-américain UNOS (15) (*United Network for Organ Sharing*) comme des donneurs âgés de plus de 60 ans ou âgés de 50 à 59 ans avec deux des trois critères suivants :

- Un antécédent d'hypertension artérielle
- Une créatininémie, au moment du prélèvement, supérieure à 132 µmol/l
- Un décès d'origine cérébro-vasculaire.

Ces recommandations ont ainsi permis, en France, d'augmenter le nombre de transplantations avec, en 2017, 3 782 greffes réalisées soit une augmentation de 4,6% (+167 greffes) par rapport à 2016. Parmi elles, 77,6% soient 2936 greffes ont été réalisées à partir d'un donneur en état de mort encéphalique, 1,5% soit 57 greffes, à partir d'un donneur décédé d'un arrêt circulatoire secondaire à un arrêt cardiaque (Donneur Maastricht I et II), 4,7% soit 178 greffes avec un donneur décédé après un arrêt circulatoire suite à une limitation thérapeutique (Maastricht III) et 16,1% soit 611 greffes après un don vivant. L'activité de prélèvement à partir de donneurs vivants marque alors une progression de 175 % depuis 2008 (16% de l'activité de greffe rénale en 2017 contre 8% en 2008) - *données du rapport annuel de l'agence de la Biomédecine*.

En 2017, la part des transplants issus des donneurs à critères élargis atteignait 50% des greffes issues de donneurs en mort encéphalique, soit 1472 transplantations et une augmentation de 29% depuis 2011. Ces chiffres contrastent avec le nombre constant de transplantations issues de donneurs optimaux (1464 en 2017 contre 1470 en 2011) (Figure 4).

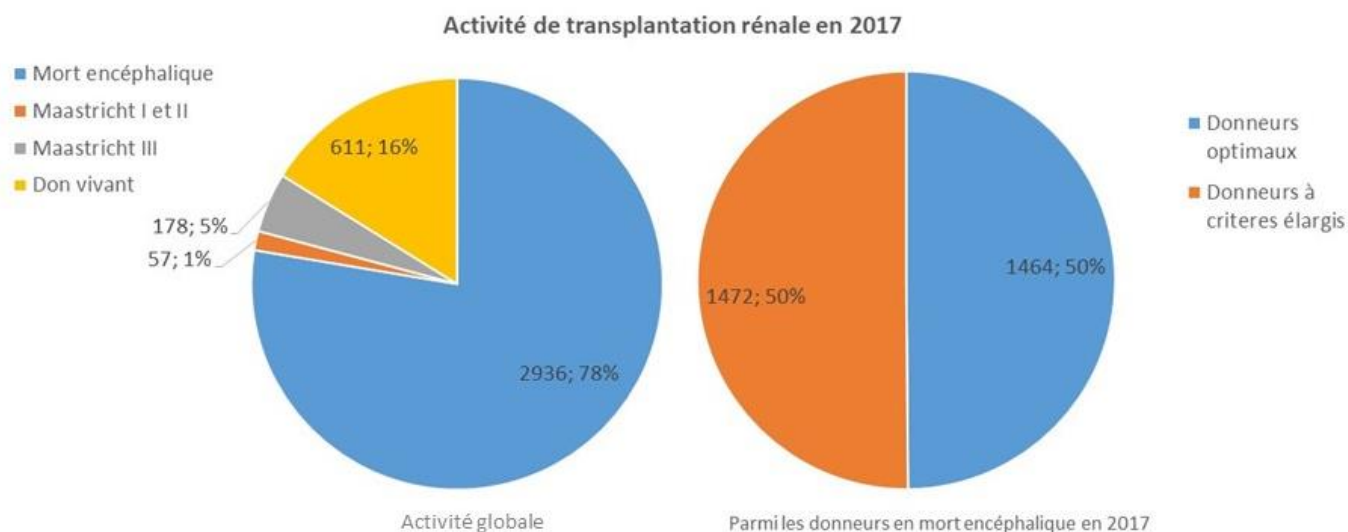


Figure 4. Activité de transplantation rénale en 2017 selon le type de donneurs.
D'après les données issues du rapport « greffe rénale » de l'agence de biomédecine de 2017.

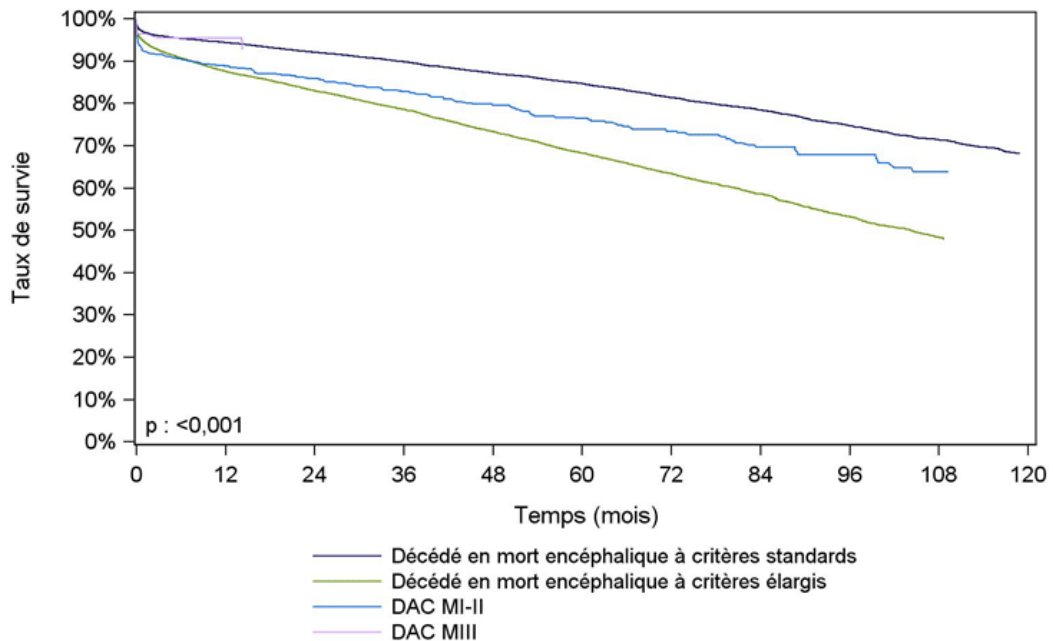
Le recours aux greffons ECD a permis d'améliorer le taux de transplantation et la survie des patients dialysés en attente de greffe en diminuant le délai sur liste d'attente, qui est aujourd'hui identifié comme l'un des facteurs de risques majeurs de décès chez les patients dialysés.

Toutefois, bien que les résultats observés avec ces transplants « sub-optimaux » restent bien supérieurs aux résultats de la dialyse, la reprise de fonction rénale et la durée de vie de ces transplants marginaux demeure inférieure à celle des transplants optimaux.

Chez le receveur jeune (<65 ans), la transplantation d'un rein prélevé chez un donneur ECD a pu être associée à :

- une fréquence accrue de reprise retardée de fonction (RRF) (16), définie dans la plupart des études (17) comme la nécessité d'un recours à la dialyse dans la première semaine suivant la transplantation,
- une fréquence accrue de reprise lente de fonction (RL) qui a, comme la RRF, un caractère péjoratif sur le devenir de la greffe(18),

- une fréquence accrue de dysfonction primaire (5,5% pour un donneur ECD, 2% pour une transplantation issue d'un don vivant et 3,1% à partir d'un donneur cadavérique standard) ou chronique du transplant,
- une fréquence accrue de rejets aigus par rapport aux transplants optimaux(19). (Figure 5)



Type de donneur	N	Survie à 1 mois	Survie à 1 an	Survie à 5 ans	Survie à 10 ans	Survie à 15 ans	Médiane de survie (mois)
Décédé en mort encéphalique à critères standards	14732	96,8% [96,5% - 97,1%]	94,3% [94,0% - 94,7%]	84,7% [84,0% - 85,3%]	NO	NO	NO
nombre de sujets à risque*		14127	13108	6838	501	0	
Décédé en mort encéphalique à critères élargis	11846	94,6% [94,2% - 95,0%]	87,5% [86,9% - 88,1%]	68,3% [67,3% - 69,2%]	NO	NO	104,2 [99,6 - 107,5]
nombre de sujets à risque*		11042	9705	3933	196	0	
DAC MI-II	643	92,4% [90,0% - 94,2%]	88,8% [86,1% - 91,0%]	76,4% [72,5% - 79,8%]	NO	NO	NO
nombre de sujets à risque*		593	548	260	9	0	
DAC MIII	113	96,4% [90,7% - 98,6%]	95,4% [89,3% - 98,1%]	NO	NO	NO	NO
nombre de sujets à risque*		100	65	0	0	0	

[] : Intervalle de confiance

NO : non observable

* : Nombre de malades restant à observer pour chaque temps et pour lesquels aucun événement n'est survenu

DDAC MI-II : donneur décédé après arrêt circulatoire suite à un arrêt cardiaque inopiné (catégories I et II de Maastricht)

DDAC MIII : donneur décédé après arrêt circulatoire suite à la limitation ou l'arrêt des thérapeutiques (catégories III de Maastricht)

Données extraites de CRISTAL le 05/03/2018

Figure 5. Survie des transplants selon leur origine. Figure extraite du rapport « greffe rénale » de l'Agence de Biomédecine 2019.

L'âge du receveur est un facteur associé à la moindre survie du patient et du transplant (20). Une étude de 2014 a ainsi montré que le risque de décès à 4 ans de la transplantation rénale était de 6 % chez des receveurs de moins de 50 ans, 22 % chez des patients de 60 à 69 ans et 32 % de 70 à 79 ans (21). D'autres études ont cependant montré que la survie du transplant censurée sur le décès était similaire quel que soit l'âge du receveur, ce qui pouvait s'expliquer par le fait que le décès est la première cause de perte de transplant chez les receveurs âgés.

Il s'agit en effet d'une population particulière dont l'espérance de vie est limitée en raison de l'âge avancé : il a notamment été montré que, bien que la demi-vie du transplant soit inférieure chez les receveurs de plus de 65 ans, elle se rapproche de la demi-vie du patient, lui offrant ainsi une survie sans dialyse satisfaisante et une amélioration notable de la qualité de vie.

Le recours à ces transplants ECD s'avère alors particulièrement intéressante dans cette population de patients insuffisants rénaux chroniques terminaux âgés et a d'ailleurs été à l'origine de la stratégie « Old for Old » développée depuis 1999 dans le cadre du programme Eurotransplant pour les patients âgés (Eurotransplant Senior Program, ESP). Cette stratégie vise à attribuer aux candidats âgés de plus de 65 ans un transplant de plus de 65 ans situé dans une zone géographique proche, indépendamment des compatibilités HLA. À 5 ans, les patients du groupe ESP présentent ainsi une diminution du temps d'attente sur liste et une réduction du temps d'ischémie froide, et donc du taux de reprise retardée de fonction du transplant.

L'intérêt de l'utilisation de transplants issus de donneurs ECD apparaît donc indiscutable, celle-ci étant particulièrement adaptée à une population de receveurs âgés où la stratégie de don vivant est moins aisée et éthiquement discutable.

Dans ce contexte, la meilleure compréhension des mécanismes qui contribuent à la moindre survie de ces transplants ECD représente dès lors un enjeu médical majeur pour continuer d'élargir l'accès à la transplantation et optimiser la prise en charge de l'IRCT.

Impact du vieillissement et des comorbidités cardiovasculaires du donneur sur la vasculo-compétence du transplant

L'endothélium allogénique du transplant constitue l'interface entre le donneur et le receveur et est ainsi la cible principale de l'initiation des réponses immunitaires du receveur vis-à-vis du greffon.

Ceci se traduit par la mise en place de mécanismes de lésions vasculaires et de dysfonction endothéliale qui sont préjudiciables à la bonne fonction de l'organe transplanté. Dans le contexte de transplants issus de donneurs ECD, ces processus associés à la vulnérabilité de l'endothélium sont à l'œuvre avant même la transplantation. Le maintien de l'intégrité vasculaire du transplant avant greffe est un facteur déterminant de la « qualité » du transplant car il conditionne d'une part la capacité de résistance endothéliale au stress ischémique avant greffe et d'autre part à l'environnement urémique et inflammatoire auquel il sera confronté chez le receveur. Il est admis que l'âge et les facteurs de risques cardiovasculaires caractéristiques du donneur ECD sont des facteurs qui favorisent l'inflammation et la dysfonction endothéliale. Ces mécanismes inflammatoires sont associés à une expression accrue de molécules d'activations endothéliales qui favorisent une plus grande immunogénicité de l'endothélium et le recrutement tissulaire de leucocytes activés du receveur. Ce processus d'inflammation alloimmune est dépendant de l'induction à la surface de l'endothélium de molécules d'adhésion et d'activation endothéliales telles que CD54/ICAM-1, CD144/VE-Cadherin, CD31/PECAM, impliquées dans l'adhésion lymphocytaire et la transmigration trans-endothéliale (22).

Cette activation endothéliale se traduit ainsi par l'induction des réponses cytotoxiques allogéniques des cellules immunes et la production de cytokines inflammatoires qui favorisent la mise en place et la progression de la vasculopathie d'allogreffe (23).

Le bon fonctionnement du système vasculaire du transplant peut être également affecté par des processus de sénescence cellulaire associés au vieillissement de l'organe greffé. Les effets de l'âge du donneur sur la dysfonction endothéliale semblent ainsi constituer un élément déterminant de la « qualité » des transplants ECD, mais les mécanismes en jeu semblent encore insuffisamment appréhendés.

La mise en place d'une sénescence prématurée peut survenir en réponse à des stimuli environnementaux ou facteurs de stress affectant l'ADN, la structure de la chromatine ou les voies de signalisation contrôlant le cycle cellulaire. Cette sénescence qualifiée de « stress-induced premature senescence » (SIPS) a pu être associée au développement de nombreux processus physiopathologiques affectant notamment le système vasculaire. Les données actuelles de la littérature montrent que les cellules sénescents sont métaboliquement actives (24) et sécrètent un large spectre de cytokines, chémokines et de microvésicules potentiellement pro-inflammatoires. Ce profil sécrétoire associé à la sénescence, appelé SASP pour *Senescence Associated Secretory Phenotype*, est décrit comme délétère sur les tissus du microenvironnement car il propage la réponse inflammatoire et favorise le recrutement de leucocytes activés dans les tissus.

Les molécules du SASP incluent les cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-8, l'IL-6 et leurs récepteurs, des facteurs de croissance spécifiques tels que le VEGF, l'EGF, le GDF-15, le TGF- β et leurs récepteurs, des molécules d'activation endothéliale telles que ICAM-1 et VCAM-1, CD31/PECAM (25). Les effets tissulaires d'un SASP ont été impliqués dans de nombreuses pathologies associées à l'âge et notamment les pathologies cardiovasculaires et tumorales. Les protéines de la famille des Sirtuines (26) ou l'altération de la production rénale de molécule anti sénescence telle que la protéine Klotho (27) ont également été impliquées dans la régulation de l'homéostasie et de la sénescence associée au vieillissement vasculaire.

Le SASP peut ainsi contribuer au vieillissement fonctionnel de l'endothélium ainsi qu'à l'altération de la fonction des cellules environnantes.

Dans le contexte de la transplantation, ces altérations endothéliales liées au vieillissement et à l'inflammation sont ainsi susceptibles de participer à la dysfonction vasculaire en fragilisant l'endothélium du donneur avant même la greffe. Elles peuvent initier le développement de lésions d'athérosclérose et de vasculopathie du transplant. Cette hypothèse est cliniquement étayée par les données de la littérature qui montrent que les transplants à critères élargis sont plus fragiles et plus sensibles que les transplants issus de donneurs plus jeunes aux lésions d'ischémie-reperfusion et aux agressions alloimmunes et toxiques (urémie, drogues immunosuppressives) auxquelles est confronté le transplant en post greffe.

La compréhension des mécanismes de lésion/régénération à l'origine de la rupture de l'homéostasie endothéliale est ainsi déterminante pour envisager d'améliorer la vasculo-compétence de ces transplants issus de donneurs ECD.

Les lésions d'ischémie-reperfusion, des mécanismes complexes

La mort encéphalique induit un « orage cytokinique » responsable d'un état inflammatoire généralisé du donneur. Dès les premières heures du décès et donc avant même le prélèvement d'organe, les reins, tout comme les autres organes, sont soumis à un état inflammatoire potentialisant l'immunogénicité du transplant et la survenue de lésions vasculaires (28). Ainsi, la mort encéphalique provoque la libération de cytokines pro-inflammatoires, une activation endothéliale et une surexpression des antigènes HLA du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I et de classe II susceptible d'activer les réponses immunes du receveur et notamment la production d'alloanticorps associés au rejet.

Le clampage du rein vient ensuite provoquer de nombreuses modifications métaboliques. Il est couramment admis que ces modifications seraient trop sévères dans le cadre d'une ischémie chaude et seraient donc incompatibles avec les délais liés à la transplantation rénale. En effet, le chimiste néerlandais Jacobus Henricus van't Hoff avait démontré qu'une baisse de température de 10°C diminuait de moitié l'activité enzymatique et donc le métabolisme cellulaire. On estime donc qu'à 4°C, il persisterait 12% du métabolisme initial (29). C'est pourquoi, l'hypothermie est actuellement la solution privilégiée afin de limiter ces lésions.

Au niveau du métabolisme cellulaire, l'ischémie provoque donc une déprivation en oxygène avec un arrêt du métabolisme du glucose aérobie responsable d'une baisse de la production d'ATP et l'accumulation de dérivés réactifs de l'oxygène insuffisamment éliminés par des systèmes enzymatiques au ralenti. Le manque d'ATP, substrat énergétique essentiel, va alors induire un œdème cellulaire par une dérégulation des flux ionique membranaire (30). Ces lésions cellulaires sont aggravées lors du déclampage par une correction trop rapide du pH extracellulaire induisant un gradient de H⁺ de part et d'autre de la membrane cytoplasmique qui aggrave encore l'œdème cellulaire.

Au niveau des cellules endothéliales, l'œdème cellulaire peut provoquer une obstruction de la microvascularisation responsable d'une reperfusion partielle de l'organe lors du déclampage. Par ailleurs, l'absence de flux sanguin et des forces de

cisaillement qu'il procure (*shear stress*) provoque une activation endothéliale avec induction de l'expression à la surface endothéliale de molécules d'adhésion leucocytaires comme ICAM-1 VCAM-1 (31).

Au niveau immunologique, les lésions d'ischémie-reperfusion vont induire une activation des cellules de l'immunité innée tels que les polynucléaires neutrophiles, les cellules dendritiques, les monocytes, les macrophages et les cellules Natural Killer, via des récepteurs appartenant à la famille des *pattern recognition receptors*. L'activation de ces récepteurs va alors entraîner la production de cytokines et chémokines pro-inflammatoires (notamment l'IL6, l'IL1, TNF- α , IL-8, IFN- γ) (32) et l'expression membranaire de molécules du complexe majeur d'histocompatibilité. Cette activité paracrine des cellules de l'immunité innée régule l'efficacité de mise en place des fonctions cytotoxiques et cytokinienne des lymphocytes de l'immunité adaptative et notamment la production par les lymphocytes B d'anticorps dirigés contre le transplant. Comme explicité dans le paragraphe précédent, les transplants issus de donneurs marginaux présentent une dysfonction endothéliale constitutive réduisant considérablement leur tolérance à ces lésions d'ischémie-reperfusion (33).

La perfusion sur machine hypothermique protège l'endothélium du transplant

La conservation des organes ex-vivo est un concept qui fascine les scientifiques depuis des décennies. César Legallois écrivait en 1812 « si l'on pouvait substituer au cœur une sorte d'injection de sang artériel, naturel ou artificiel, on parviendrait facilement à maintenir en vie indéfiniment n'importe quelle partie du corps »(34). Alexis Carrel, en 1935, publiait les premiers résultats de perfusions sur machine de différents organes d'animaux (35). Il faut ensuite attendre 1967 pour voir l'application de ces machines en transplantation humaine (36). A l'époque, la complexité du dispositif, la nécessité d'un personnel dédié et l'absence de preuve de son efficacité ont contribué à ce que l'utilisation de ces machines reste marginale jusqu'aux années 2000.

La perfusion sur machine a aujourd'hui montré son efficacité pour le conditionnement des transplants issus de donneurs à critères élargis (37,38) et de donneurs décédés par arrêt cardiaque. Un essai clinique, rapporté par Treckmann et al., incluant 91 donneurs ECD consécutifs avait attribué de façon aléatoire un des reins de chaque donneur à une perfusion sur machine et l'autre rein à un conditionnement statique. Le

critère de jugement principal était la reprise retardée de fonction du transplant. Ils avaient alors démontré que le conditionnement sur machine avait significativement amélioré le devenir de ces transplants avec 29,7% de reprise retardée dans le groupe conservation statique contre 22% dans le groupe perfusion sur machine (OR : 0,46 p=0,047), justifiant alors l'essor actuel de ce moyen de conservation en France notamment. Le rapport de l'agence de biomédecine rapporte qu'en 2017 73,7% (contre seulement 24% en 2013) des reins issus de donneurs à critères élargis étaient perfusés sur machine montrant ainsi l'adhésion à son programme de diffusion.

Toutefois les mécanismes liés au rôle bénéfique de cette technique sur la conservation du transplant ne sont aujourd'hui que partiellement identifiés (39). Un des mécanismes clé serait une protection de l'endothélium du transplant. En effet, *in vivo*, ces cellules sont soumises en permanence à un flux laminaire imposé par la circulation sanguine (appelé *shear stress*). L'absence de shear stress provoque une entrée en apoptose, une augmentation de la perméabilité vasculaire et une activation endothéliale qui favorise l'adhésion et la transmigration de cellules immunes activées au sein des tissus sous-jacents, ce qui se traduit par une amplification de la dysfonction endothéliale. Les machines, par le flux pulsé de liquide de conservation qu'elles délivrent, miment ce shear stress et protègent ainsi l'endothélium. Ce flux doit en revanche être contrôlé car des pressions trop élevées sont délétères pour l'organe.

Les autres bénéfices probables de la perfusion seraient une fonction de lavage ou plus exactement de dilution (la perfusion ayant lieu en circuit fermé) des déchets métaboliques, un apport d'oxygène assurant un métabolisme aérobie résiduel et une préparation à la revascularisation par le maintien ouvert du lit capillaire du transplant.

Des progrès ont donc été accomplis en passant d'une conservation statique à la perfusion sur machine en conditions hypothermiques afin de limiter les effets de l'ischémie sur le transplant (40). Des études pilotes évaluent également le bénéfice des approches de perfusion normothermiques (41).

La biopsie rénale préimplantatoire, une méthode invasive d'exploration de l'endothélium du transplant

La difficulté d'accès à une source endothéliale représentative de l'état vasculaire du transplant avant la greffe limite les possibilités d'étude de marqueurs de souffrance endothéliale propres au donneur.

L'essentiel des études portent sur des biopsies du transplant réalisées plus ou moins précocement chez le receveur dans le cadre du suivi du rejet. Elles ont permis de décrire un ensemble de transcrits d'activation endothéliale et immuns associés à la signature moléculaire du rejet de greffe. Ces études montrent l'importance des marqueurs d'activation cytotoxique et cytokinique (Interferon- γ associé à l'alloréactivité des cellules immunes Natural Killer) dans le diagnostic spécifique des lésions vasculaires de rejet humoral en transplantation rénale et cardiaque (42). Cependant, peu d'études appréhendent les marqueurs de souffrance endothéliale spécifiquement associés au donneur ECD avant la greffe. Une étude récente suggère néanmoins que des marqueurs d'activation immune associés à un profil pro-sénescence peuvent être identifiés sur des biopsies préimplantatoires (43).

L'étude du parenchyme du transplant et de son endothélium peut être abordée par la réalisation d'une biopsie pré-implantatoire du transplant (44). Deux techniques biopsiques sont principalement décrites.

La biopsie chirurgicale au bistouri froid ou wedge-biopsy consiste à réaliser une incision corticale du transplant en quartier dans la région sous-capsulaire de la convexité du rein. C'est une des techniques privilégiées par les équipes chirurgicales car elle permet l'obtention d'une quantité importante de matériel et une réparation chirurgicale aisée après mise en charge du transplant en cas d'hémorragie au niveau du site de biopsie. En revanche, il s'agit d'une approche superficielle du parenchyme rénal qui ne donne qu'un accès limité à l'étude de l'endothélium. En effet, la majorité de l'arbre vasculaire se trouve dans la région péri-hilaire et les vaisseaux artériels, et surtout ceux de calibres importants y sont rares. Plusieurs études ont donc montré que cet abord sous-estimait les lésions d'artériosclérose et surestimait la glomérulosclérose et les lésions d'ischémie.

La biopsie profonde à l'aiguille ou core needle biopsy est une approche permettant une exploration plus exhaustive du parenchyme rénal. Elle consiste à la mise en place,

toujours au niveau de la convexité du rein, d'une aiguille de calibre variable (de 14 à 18 gauges) alors enfoncée en profondeur dans le parenchyme rénal. Cette approche donne accès à une quantité plus restreinte de matériel à moins de réaliser plusieurs carottes biopsiques multipliant ainsi le risque de traumatisme du transplant. Elle permet néanmoins une meilleure évaluation du transplant comprenant une analyse du cortex rénal. Le risque de traumatisme vasculaire (saignement actif par lésion artérielle, fistules artérioveineuses ou encore faux-anévrysmes artériels) lié à cette technique, peu contrôlable par l'opérateur, n'est cependant pas à négliger d'autant plus qu'elle interdit la possibilité d'une réparation chirurgicale du fait de la profondeur des éventuelles lésions provoquées lors de cette procédure.

Les données très limitées de la littérature sur la morbidité spécifique liée à ces biopsies (45) semblent cependant rassurantes. En effet, Duman et al rapportent dans une série de 236 biopsies rénales pré-implantatoires un taux de 4% de complications de type fistules artério-veineuses, hématomes intra-parenchymateux ou encore d'hématomes péri-rénaux avec, dans tous les cas, une régression spontanée des lésions.

Quoi qu'il en soit, ces deux approches biopsiques ne permettent qu'un prélèvement très limité de matériel du transplant avec bien souvent une quantité ne permettant pas une évaluation correcte de la « qualité » du transplant (plus de 20% de biopsies non contributives). De plus, il paraît bien sûr indispensable d'offrir au receveur un transplant le plus intègre possible. Cette approche biopsique apparaît donc très peu adaptée à l'étude exploratoire des mécanismes pouvant altérer la fonction du transplant.

Le tissu adipeux péri-rénal, un tissu en étroite interaction avec le rein.

Le tissu adipeux péri-rénal (TAP) présente de nombreuses particularités qui le distinguent des autres types de tissu adipeux (46). Tout d'abord, il présente des caractéristiques anatomiques distinctes avec une vascularisation artérielle complète qui lui est propre avec un riche réseau anastomotique. Ce réseau est composé de branches issues des artères surrenales inférieures, colique droite (pour le TAP droit uniquement), lombaires, rénales et gonadiques.

Il possède, de plus, un important réseau lymphatique se drainant vers les ganglions para-aortiques qui communiquent avec les vaisseaux lymphatiques sous-capsulaires du rein (47). Ce tissu adipeux présente également une innervation propre dont l'origine des fibres proviendrait des ganglions nerveux viscéraux. Par ailleurs, le fascia de Gerota est une structure fibreuse qui entoure le TAP, les surrenales et le rein. Il sépare complètement ces structures des autres organes de voisinage. Le TAP est ainsi le seul tissu adipeux « encapsulé » entourant étroitement le rein et est susceptible d'exercer une interaction paracrine directe avec le parenchyme rénal (48). Outre les adiponectines classiquement secrétées par le tissu adipeux, le TAP sécrète, via ses cellules immunes résidentes, des cytokines, notamment inflammatoires comme le TNF- α , régulant ainsi la physiopathologie rénale (49). Des expérimentations chez l'animal ont même rapporté que le TAP pouvait induire une dysfonction endothéliale des artères rénales (50).

La fraction vasculaire stromale comme modèle d'étude non invasif de l'endothélium

Historiquement, le tissu adipeux blanc était considéré comme un simple tissu de stockage énergétique via son principal constituant cellulaire : l'adipocyte. En effet, cette cellule est capable de capter le glucose et les acides gras circulant dans les lipoprotéines plasmatiques afin de synthétiser des triglycérides qu'elle stocke dans les gouttelettes lipidiques. L'adipocyte est capable d'hydrolyser secondairement ces triglycérides pour libérer des acides gras et du glycérol et répondre aux besoins énergétiques de l'organisme. Ses propriétés d'isolant thermique, de tissu de soutien et de protection mécanique sont également bien documentées. Depuis plusieurs années, le tissu adipeux est aussi considéré comme un véritable organe endocrine et paracrine qui participe activement à l'homéostasie de nombreux processus physiopathologiques de l'organisme (51).

De nombreux travaux ont notamment contribué à caractériser les propriétés régénératives d'une population cellulaire dérivée du tissu adipeux et riches en cellules souches appelée fraction vasculaire stromale (FVS). Cette FVS, obtenue après digestion enzymatique du tissu adipeux et élimination des adipocytes, est désormais considéré comme un produit de thérapie cellulaire à part entière en médecine régénérative (52).

Du fait des perspectives thérapeutiques associées aux propriétés angiogéniques et anti-fibrosantes des cellules mésenchymateuses et endothéliales contenues dans la FVS (53), son isolement à partir du tissu adipeux sous cutané est aujourd'hui une technique bien maîtrisée et relativement standardisée. La technique la plus répandue est l'isolation enzymatique de la FVS à partir du tissu adipeux prélevé par lipoaspiration sous-cutanée. Le produit d'aspiration est ensuite digéré par une collagénase séparant sous l'action de la gravité le contenu en 2 phases : le surnageant contenant les adipocytes matures et la fraction aqueuse dans la partie inférieure contenant les cellules d'intérêt : la FVS. Cette séparation peut être améliorée en utilisant des méthodes de centrifugation. Des techniques de filtration basées sur la taille des différentes cellules permettent également d'enrichir le cocktail ainsi obtenu en cellules régénératives d'intérêt. La fraction érythrocytaire, contaminant majeur de cette FVS, peut ensuite être éliminée par lyse cellulaire afin de purifier la fraction vasculaire stromale en vue de son expansion in vitro. D'autres techniques non enzymatiques ont

depuis été décrites avec notamment l'utilisation de techniques impliquant l'agitation mécanique qui décompose le tissu adipeux et libère les cellules stromales.

Ces techniques classiques d'extraction impliquaient donc un traitement en laboratoire du tissu adipeux et étaient alors une contrainte considérable limitant son utilisation en médecine régénérative chez l'homme. Cela a conduit au développement dans des laboratoires de thérapie cellulaires dédiés de techniques automatisées en condition GMP et directement réalisable sur le lieu du prélèvement. Elles procurent deux avantages considérables : la réduction du temps de traitement du tissu adipeux et donc la diminution du temps d'anesthésie générale du patient et la reproductibilité de l'extraction de la FVS en circuit fermé dans des conditions réglementaires diminuant considérablement le risque de contamination bactérienne par les manipulations successives. Ces méthodes ont, depuis leur mise au point, montré leur efficacité avec une vitesse de traitement supérieure à la méthode de référence et l'absence d'altération significative de la qualité cellulaire cette fraction vasculaire stromale (54).

Différentes études phénotypiques, principalement menées sur la FVS du tissu adipeux sous-cutané, ont permis d'identifier de façon précise la composition cellulaire de la FVS en lien avec leur activité régénérative. Elles permettent de distinguer 4 populations cellulaires prédominantes dont les proportions varient selon le site anatomique d'extraction ainsi que la technique utilisée (55,56).

- Une composante leucocytaire, identifiée par le marqueur CD45, dite CD45+, qui représente 25% à 45% de la composition cellulaire de la FVS et comprend principalement des granulocytes (10% à 15%), des monocytes/ macrophages (5% à 15%) et des lymphocytes (10% à 15%) ;
- Une composante stromale et mésenchymateuse, CD45-, CD146-, CD34+, CD90+ qui représente 15% à 30% de la composition cellulaire qui est capable de se différencier en lignée adipocytaire, ostéoblastique ou encore chondrocytaire ;
- Des péricytes, (CD45-, CD146+, CD34-, CD90-), qui représente 3% à 5% de la composition cellulaire ;
- Enfin, une composante endothéliale, CD45-, CD34+, CD146+ ou CD31+, qui représente 10% à 20% de la composition cellulaire et regroupe des cellules de

niveaux différents de maturité et notamment des cellules progénitrices de type endothelial colony forming cells (*ECFC*).

Les *ECFC* sont des cellules progénitrices possédant un potentiel de prolifération élevé à l'échelon clonal qui sont dotées de capacité de différenciation endothéliale stricte et d'un potentiel vasculogénique spécifique à la formation de néovaisseaux fonctionnels *in vivo* (57).

Les *ECFC* ont tout d'abord été isolées et identifiées à partir de sang de cordon ombilical où elles sont particulièrement abondantes. Ces mêmes cellules ont également été identifiées à partir de sang périphérique humain mais cependant dans des proportions beaucoup plus faibles, limitant considérablement leur utilisation en thérapeutique. Il a même été montré qu'environ 30% des sujets adultes ne possédaient pas d'*ECFC* circulantes. Les *ECFC* issues du tissu adipeux blanc, quant à elles, sont bien plus abondantes et plusieurs études ont pu montrer que leurs caractéristiques fonctionnelles étaient comparables à celles initialement étudiées à partir du sang de cordon ou du sang périphérique adulte (58,59).

Différentes études ont montré que ces *ECFC*, isolées du sang périphérique notamment, de patients présentant des facteurs de risque cardiovasculaires ou encore des pathologies vasculaires, perdaient une grande partie de leur capacité de prolifération et de différenciation du fait de l'empreinte du contexte pathogène. Ces altérations, qui intègrent les facteurs génétiques et environnementaux propres au patient, constituent un modèle d'étude relevant pour la compréhension de mécanismes pathogéniques affectant l'endothélium. Parmi ces mécanismes, l'induction d'une sénescence accélérée, notamment dépendante de la diminution d'expression de SIRT1, a été objectivée dans les *ECFC* issues de nouveau-nés prématurés, de patients fumeurs (60) ou diabétiques et impliquée dans la survenue d'une dysfonction endothéliale précoce.

En raison de ses caractéristiques phénotypiques, de son abondance en cellules progénitrices mésenchymateuses et endothéliales et de l'automatisation croissante des méthodes de traitement et d'extraction, la FVS représente donc une source attractive pour le développement de produits de thérapie cellulaire (61). En effet, de nombreux essais cliniques sont actuellement en cours avec des résultats

encourageants. Nous pouvons citer son utilisation dans la sclérodémie (53), les dysfonctions érectiles (62), les artériopathies oblitérantes des membres inférieurs (63) ou encore la maladie de Crohn (64).

A ce jour, les essais thérapeutiques concernent essentiellement le recours aux prélèvements de tissu adipeux sous cutané. Bien que ces applications thérapeutiques pourraient trouver un sens dans le traitement de pathologies rénales (65,66), nous manquons actuellement de données afin d'appréhender les caractéristiques du contingent endothélial de la FVS issue de la graisse péri-rénale humaine. Le développement de modèles non invasifs d'étude ex vivo des facteurs environnementaux susceptible d'impacter endothélium apparait tout naturellement comme le deuxième aspect de l'utilisation de la fraction vasculaire stromale.

Du fait de sa proximité immédiate avec le rein, nous posons l'hypothèse que le tissu adipeux péri-rénal pourrait constituer un modèle original et non invasif d'étude des modifications du profil de l'endothélium du donneur car il est exposé à des facteurs de risques comparables à ceux de l'endothélium du parenchyme rénal du transplant *in situ*.

Ceci motive donc notre étude exploratoire évaluant le tissu adipeux péri-rénal comme une source potentielle de cellules permettant de caractériser les paramètres liés au profil des transplants marginaux avant la greffe.

Objectifs

Notre objectif est donc de rechercher si la fraction vasculaire stromale issue du tissu adipeux péri-rénal prélevé chez le donneur avant la transplantation peut présenter un profil cellulaire et moléculaire représentatif de l'état inflammatoire et des altérations endothéliales associées au contexte ECD.

Cette étude s'articule ainsi en deux volets pour :

- Caractériser la composition cellulaire, le profil d'expression de gènes pro-inflammatoires et l'activité angiogénique de la FVS-TAP issue de donneurs ECD comparativement à des donneurs optimaux.
- Etudier si le contexte ECD induit une activation inflammatoire de l'endothélium objectivable sur des *ECFC* issues du TAP exposées au liquide de conservation des transplants.

Matériels et méthodes

Approche méthodologique

Cette étude s'articule en deux approches méthodologiques distinctes schématisées et détaillées ci-après. Dans la première partie (I. Caractérisation de la fraction vasculaire stromale issue du tissu adipeux péri-rénal des donneurs cadavériques), nous proposons une analyse phénotypique de la composition cellulaire, une analyse du potentiel angiogénique et une analyse des transcrits inflammatoires de la TAP-FVS réalisées chez 18 donneurs cadavériques. Ce protocole est résumé dans la figure 6.

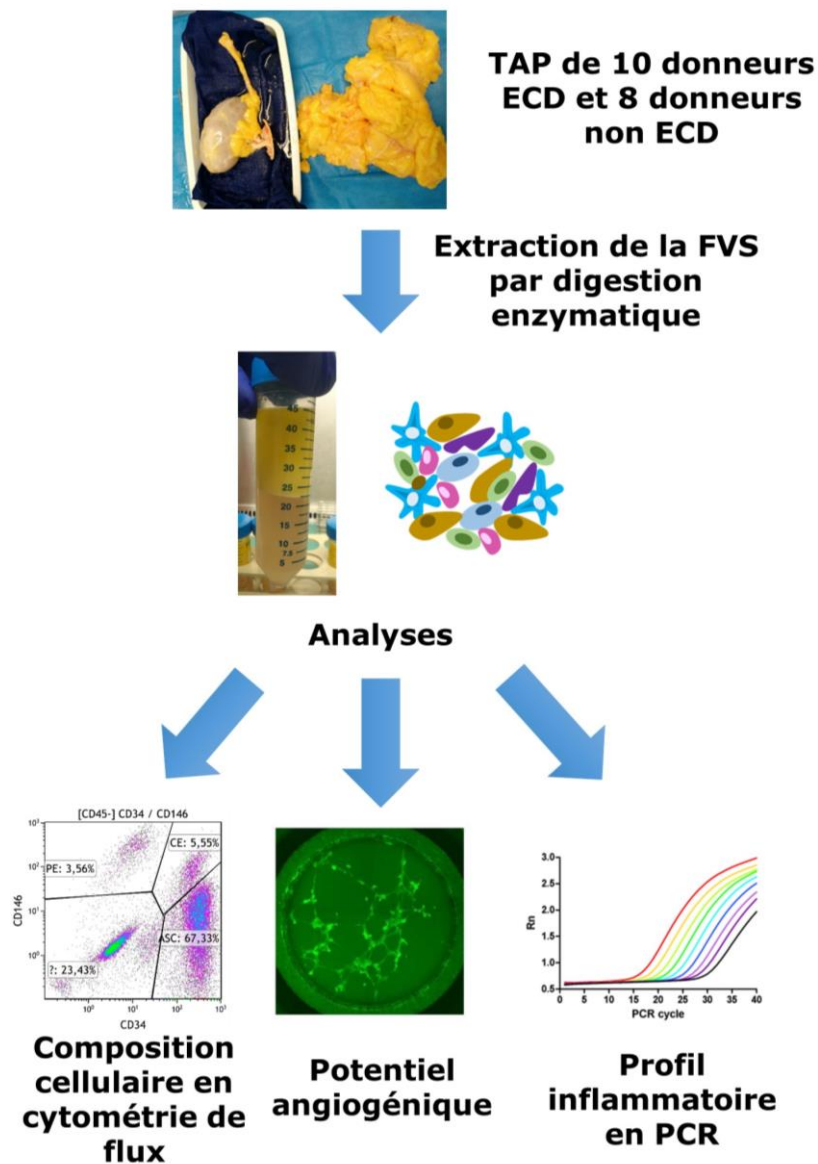


Figure 6. Résumé du protocole expérimental concernant l'analyse de la FVS.

Dans une deuxième partie, (III. Evaluation de l'effet paracrine de facteurs contenus dans le liquide de conservation sur les *ECFC* issus de la FVS-TAP), après avoir caractérisé les lignées endothéliales (*ECFC*) issues de la TAP-FVS, celles-ci ont été exposées aux liquides de conservation des organes. L'activation endothéliale, la senescence cellulaire et l'apoptose induite par ces liquides ont été mesurés. Ce protocole est résumé dans la figure 7.

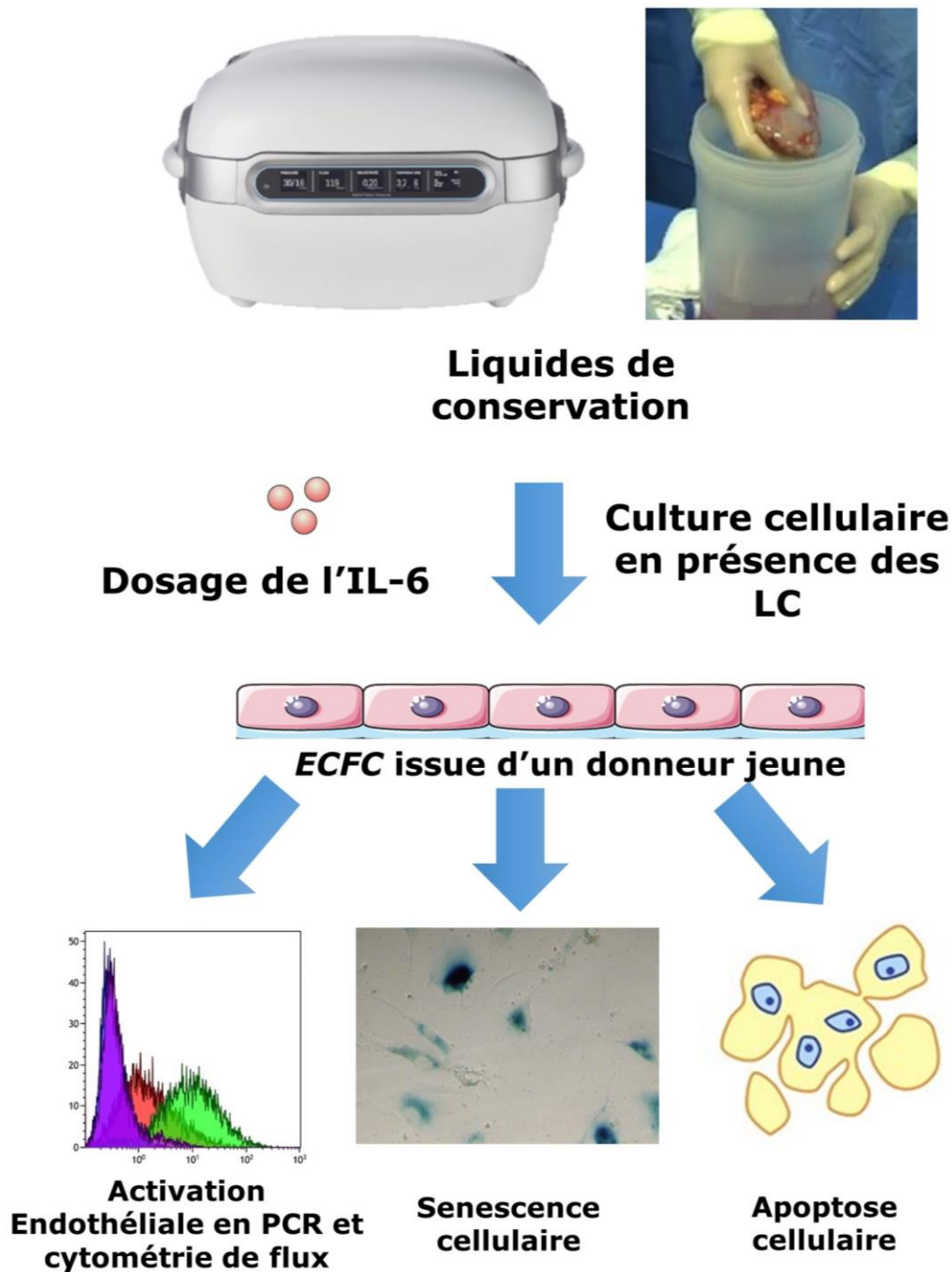


Figure 7. *Résumé du protocole expérimental concernant l'analyse des lignées endothéliales exposées aux liquides de conservation des organes.*

Autorisation de traitement des déchets opératoires issus des prélèvements d'organes

Pour notre étude, nous avons reçu l'autorisation de l'Agence de Biomédecine (ABM) (N°PFS 18-013) (Annexe I) de prélever et d'étudier le déchet opératoire que constitue la graisse péri-rénale. Ce recueil a été réalisé pour 18 donneurs cadavériques successifs dont 10 ECD et 8 non ECD sur la période allant de janvier 2019 à mai 2019.

Recueil des données des receveurs

Le dossier médical des receveurs a été consulté et les données cliniques et biologiques ont été retranscrites dans un tableur dédié pseudonymisé. Ces données ont été traitées conformément aux déclarations européennes de la RGPD et approuvées par le comité RGPD local (déclaration RGPD_2019-70, annexe I).

Recueil des données du donneurs

Les données relatives aux donneurs ont été collectées à partir des dossiers CRISTAL fournis par l'agence de biomédecine. Elles comprennent l'âge, le sexe, l'étiologie du décès, les comorbidités cardiovasculaires, le poids, la taille, la créatininémie au moment du clampage et le groupe sanguin.

Suivi de la reprise précoce de fonction du transplant

L'estimation de la fonction rénale des receveurs a été réalisée par la formule CKD-EPI (67). La reprise retardée de fonction du transplant a été définie par la nécessité d'une dialyse dans la semaine suivant la transplantation. Une reprise lente de fonction a été définie par une mesure de la créatininémie à 5 jours en post opératoire supérieure à 264 $\mu\text{mol/l}$ (18).

Prélèvement de la graisse péri-rénale

Les urologues de l'AP-HM assurent les prélèvements rénaux sur les sites AP-HM, l'hôpital privé Clairval à Marseille, l'hôpital Sainte-Musse de Toulon (en collaboration avec l'équipe d'urologie locale), le centre hospitalier intercommunal des Alpes du sud de Gap, le centre hospitalier d'Avignon, le centre hospitalier du Pays d'Aix et le centre hospitalier d'Ajaccio. Après explantation en bloc des deux reins avec leur graisse péri-rénale, les reins sont préparés avant d'être conditionnés pour le transport. L'urologue

procède alors sur la back-table au dégraissage de la grande convexité du rein et la préparation des vaisseaux. Cette graisse péri-rénale, considérée comme un déchet opératoire, est habituellement jetée. La graisse est acheminée à 4°C et stockée au laboratoire à 4°C avant extraction de la fraction vasculaire stromale.

Prélèvement du liquide de conservation

Après préparation sur la back-table lors du prélèvement, les organes sont immergés dans une solution électrolytique tamponnée refroidie à 4°C, appelée liquide de conservation (LC). Les transplants issus de donneurs optimaux sont conservés de façon statique dans un bocal dédié dans une solution d'IGL-1® alors que les reins issus des donneurs ECD sont transportés dans une machine de perfusion hypothermique (LifePort Kidney Transporter 1.1, Organ Recovery Systems, Chicago, Illinois, USA) et perfusés en continue par une solution de KPS®. Ces LC sont un mélange d'électrolytes, d'un tampon amortissant la variation de pH secondaire à l'ischémie, d'un imperméant et/ou un colloïde permettant de limiter l'œdème intracellulaire et interstitiel. Le but de ces LC est donc notamment de limiter les lésions d'ischémie-reperfusion qui débutent dès le clampage de l'organe. Tout au long de la conservation et ce malgré une hypothermie limitant le métabolisme cellulaire, il existe des échanges entre l'organe et le LC.

Lors de l'ouverture de la machine de perfusion ou du bocal de transport avant la transplantation, un prélèvement de liquide de conservation (LC) est alors réalisé et stocké à 4°C. Il est ensuite centrifugé à 400G pendant 5 minutes afin d'éliminer les débris cellulaires puis conservé à -80°C.

Extraction de la fraction vasculaire stromale issue de la graisse péri-rénale

Le TAP est émincé mécaniquement jusqu'à obtention d'une solution homogène contenant des fragments graisseux de taille inférieure à 3mm. La graisse est ensuite transférée dans une poche PureGraft® (Cytosol Therapeutics, inc, San Diego, USA). Elle subit 3 lavages successifs au Ringer Lactate (Baxter Inc, Opelika, AL, USA) à 37°C qui permettent grâce à ce dispositif médical de drainer les débris, les globules rouges et le liquide d'infiltration. Il s'en suit une digestion enzymatique par une collagénase NB4 (Serva, Heidelberg, German) à 0,25 UI/mL à 37°C pendant une

heure sous agitation mécanique permanente. Sont réalisés 3 cycles de lavage/centrifugation avec une étape de filtration à 70µm afin d'éliminer les cellules adipeuses et les globules rouges restants. Le compte cellulaire et la viabilité de la FVS ainsi extraite sont estimés à l'aide d'un Nucléocounter NC100 (ChemoMetec, allrod, Danmark). La FVS ainsi obtenue est séparée afin de réaliser une étude en cytométrie de flux de sa composition cellulaire, une lyse cellulaire pour extraction de l'ARN et une cryoconservation à – 80°C pour l'étude du potentiel angiogénique.

Matériel supplémentaire utilisé pour l'étude

Des progéniteurs endothéliaux de type Endothelial Colony Forming Cells (*ECFC*), isolés et expansés à partir de la FVS-TAP de deux donneurs non ECD et deux donneurs ECD, ont été utilisés comme cible de la stimulation par les liquides de conservation et inflammatoires. Ce matériel est issu de la collection biologique du laboratoire de culture et thérapie cellulaire de l'AP-HM (CIC 1409). Ces cellules ont été isolées par mise en culture des cellules CD144+ triées par immunoséparation magnétique puis expansées jusqu'à passage 3 et cryoconservées.

Analyse phénotypique de la FVS et des lignées endothéliales

Concernant la composition de la FVS, un demi-million de cellules issues de la FVS est suspendu dans 100µL par tube de PBS-/(Gibco®, Life Technologies) et incubé 20 minutes à température ambiante dans le noir avec le marqueur nucléaire DRAQ5, le marqueur de viabilité NucBlue et un des deux mix d'anticorps suivants : CD146-PE, CD34-ECD, CD45-PC5, pour étudier la population cellulaire régénérative ou CD14-FITC, CD34-ECD, CD-45PC5, CD56-PC7, CD3-APC-Alexa Fluor 750 pour étudier la population leucocytaire. On réalise ensuite une lyse des globules rouges et un lavage en PBS. Les cellules sont finalement resuspendues dans 400µL de PBS avant d'être analysées en cytométrie de flux par l'instrument NAVIOS (Beckman Coulter, Brea, California, USA). L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel Kaluza (Beckman Coulter, Brea, California, USA). La stratégie de Gating est exposée en figure 1.

Concernant les *ECFC* issues de la FVS, 100 000 cellules sont suspendues dans 100µl de PBS-/- et incubé 20 à 4°C dans le noir en monomarquage avec les marqueurs HLA-I-FITC, HLA-II-PE, CD32-APC, CD31-PE, CD144-PEvio770, CD54-PE et leurs

contrôles isotypiques respectifs. On réalise ensuite un lavage en PBS-/- . Les cellules sont finalement resuspendues dans 400µL de PBS-/- avant d'être analysées en cytométrie de flux par l'instrument NAVIOS (Beckman Coulter, Brea, California, USA). L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel Kaluza.

Purification de l'ARN et quantification par rtPCR quantitative des transcrits

L'ARN total de la FVS-TAP et l'ARN total issu des lignées endothéliales a été isolé en utilisant les kits RNeasy mini (QIAGEN Inc., Valencia, CA, USA) et en incluant une étape de digestion de l'ADN génomique par une DNase I. Cinq microgrammes de RNA par échantillon étudié a été converti en ADN complémentaire (cDNA) en utilisant 200 UI transcriptase inverse M-MLV (Invitrogen). Les amplifications par PCR ont été réalisées à l'aide du LightCycler 480 (Roche) en utilisant des amorces spécifiques des gènes étudiés. Les cycles de PCR comprenaient 10 minutes à 95°C, suivies de 40 cycles d'amplification comprenant 10 secondes à 95°C (dénaturation), 15 secondes à 62°C (hybridation) et 20 secondes à 72°C (élongation). Une étude de la courbe de fusion était réalisée pour vérifier la spécificité de l'amplification. L'expression de GAPDH a été utilisée afin de normaliser le taux relatif d'expression des transcrits analysés.

Test fonctionnel d'angiogenèse in vitro

Test des sphéroïdes :

La capacité de bourgeonnement de la FVS totale et des lignées endothéliales issues de la FVS, représentative de leur potentiel angiogénique, a été analysée grâce à la technique des sphéroïdes. Quatre cents cellules par puits ont étéensemencées dans des plaques ; 96 puits à fond en U, non coatés (SARSTED) pendant 72h à 37°C, dans un milieu EGM-2MV (80%, LONZA) / Carboxyméthylcellulose (20%, SIGMA). Le quatrième jour, après vérification par observation microscopique de la formation, les sphéroïdes ont été récupérés à l'aide d'une pipette pasteur, repris dans un mélange de milieu Carboxyméthylcellulose 80% et sérum fœtal de veau 20% auquel a été rajouté un gel de collagène. Après homogénéisation, le gel était transféré dans une plaque 24 puits pendant 30 min à 37°C pour permettre sa polymérisation. Par la suite, 100 µl de milieu EGM2-MV ont été rajoutés, avant d'incuber les sphéroïdes 24h à

37°C. Le cinquième jour, les sphéroïdes ont été fixés à l'aide de formaldéhyde 30 min à température ambiante. Des marquages immunohistochimiques au DAPI (4',6-diamidino-2-phénylindole), marqueur nucléaire, et à la phalloïdine – Alexa647 (A22287, THERMOFISHER), marqueur du cytosquelette, étaient ensuite réalisés. Après lavage au PBS, les sphéroïdes étaient conservés à 4°C puis analysés par microscopie (grossissement x20, Nikon, Eclipse, TE 2000-U), grâce au logiciel NIS Software. Le nombre de bourgeonnements (*Sprout*), la longueur totale des bourgeonnements et le nombre de ramification par bourgeonnement ont été analysés à l'aide du logiciel Fiji (ImageJ 1.52p, Wayne Rasband, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA).

Test de formation de tubes en Matrigel® :

Dans chaque puit d'une μ -slide Angiogenesis® (81506, IBIDI), 10 μ l de Matrigel® étaient déposés et incubés 30min à 37°C. Les FVS et les cellules endothéliales étaient reprises en milieu EGM2-MV. 20 000 cellules étaient déposées sur le Matrigel polymérisé. Une prise de photos était réalisée à l'aide d'un microscope optique inversé (grossissement x10, DMI8®, Leica) toutes les 24h pendant 5 jours pour la FVS totale et à 6 heures pour les cellules endothéliales issues de la FVS. Le nombre total de clusters (cellules ayant migrées et s'étant agrégées), le pourcentage de clusters présentant des tip cells et des stalk cells et le pourcentage de ramifications issues des bourgeonnements ont été quantifiés à l'aide du logiciel Fiji.

Analyse de la sénescence cellulaire

La sénescence cellulaire, évaluée par la détection de l'activité β -galactosidase, a été réalisée au moyen d'un kit (Promokine Senescence detection kit PK-CA577-K320, PROMO CELL) selon les instructions du fournisseur. Les cellules endothéliales issues de la FVS ont été décongelées à P3 puisensemencées dans des plaques 96 puits, préalablement coatées avec de la gélatine, à une densité de 7.000 cellules par puit. Des duplicats ont été réalisés pour chaque condition : mise en contact avec les LC des organes dilués au $\frac{1}{2}$ dans un milieu EGM2-MV ou en présence de TNF/INF (Tumor Necrosis Factor/ Interferon- γ) à la concentration 50ng/ml et 20ng/ml dans un milieu EGM2-MV. Après 24h de culture, le milieu de culture était éliminé et les cellules lavées deux fois en PBS supplémenté en calcium et magnésium avant d'être fixées pendant dix minutes à température ambiante grâce à la solution de fixation. Les cellules étaient

ensuite mises en présence d'un substrat chromogène de la β -gal, le X-gal à 0,5mg/ml pendant 24 h. Le nombre de cellules sénescents était évalué après observation, au microscope optique et numération, des cellules marquées (colorées en bleu) sur plusieurs champs aléatoires (grossissement x10, Nikon, Eclipse, TE 2000-U), grâce au logiciel NIS Software. Le logiciel ImageJ a été utilisé pour la quantification des cellules marquées.

Analyse de l'apoptose cellulaire

Les cellules endothéliales issues de la FVS ont été mises en culture en plaque 12 puits préalablement coatées à la gélatine. Les cellules ont été cultivées jusqu'à confluence. Elles ont ensuite été exposées aux différents liquides de conservation, dilués à 50% dans un milieu EGM2-MV pendant 4 heures à 37°C. Le contrôle positif était constitué d'un milieu EGM2-MV et H₂O₂ aux différentes concentrations de 10 nM, 100 nM et 10 μ M.

La mesure de l'apoptose a été réalisée en cytométrie de flux multiparamétrique en utilisant le kit Annexine 5 FITC – 7-AAD. Brièvement, après avoir récupéré les cellules exposées aux différentes conditions, celles-ci étaient incubées en présence de 100 μ l binding buffer, d'Annexine 5-FITC pendant 15 minutes et de 7-AAD pendant 5 minutes. Les cellules marquées étaient ensuite resuspendues dans 400 μ l de binding buffer puis analysées en cytométrie de flux par l'instrument NAVIOS (Beckman Coulter, Brea, California, USA). L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel Kaluza (Beckman Coulter, Brea, California, USA).

Dosage quantitatif de l'IL6 soluble dans les LC par méthode ELISA

Le dosage quantitatif de la cytokine inflammatoire IL6 a été réalisé à l'aide des kits ELISA Quantikine® (R&D systems, Minneapolis, USA) selon les instructions du fournisseur (Méthode ELISA en sandwich). Brièvement, les LC ont été décongelés et incubés en duplicat dans une plaque 96 puits préalablement coatée par un anticorps spécifique anti-IL6 humain pendant 2 heures à température ambiante. La gamme standard a été reconstituée et incubée en duplicat (3,13pg/ml à 300pg/ml). Un premier lavage de la plaque a été réalisé à l'aide d'une solution dédiée. Une solution contenant un deuxième anticorps anti-IL6 humain est ajoutée dans chaque puit et incubé pendant 2 heures à température ambiante puis est suivi d'une deuxième série de lavages.

Enfin, une solution permettant la coloration du puit en fonction de la concentration en anticorps est ajoutée. L'intensité colorimétrique de chaque puit est quantifiée par un lecteur de microplaque à absorbance (TECAN, Tecan group Ltd, Männedorf, Suisse) puis rapportée à la gamme standard.

Analyses statistiques

Les données qualitatives sont exprimées en nombre et pourcentage. Leurs comparaisons ont été réalisées à l'aide du test du chi² ou du test exact de Fischer. Les données quantitatives sont exprimées en médiane, premier quartile et troisième quartile. Elles ont été comparées à l'aide du test de Mann-Whitney – Wilcoxon. Une p-value <0,05 était considérée comme statistiquement significative. Les analyses de corrélations ont été réalisées à l'aide des tests de corrélation de Pearson et Spearman. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R version 3.5.3 (The R Foundation for Statistical Computing). Les représentations graphiques ont été réalisées à l'aide du logiciel GraphPad Prism® (version 5.01) et du logiciel Microsoft® Excel® 2013. Les données de recherches obtenues sur la FVS-TAP ont été évaluées pour leur lien avec les paramètres du donneur et la fonction précoce du transplant relevée chez le receveur.

Résultats

I. Caractérisation de la fraction vasculaire stromale issue du tissu adipeux péri-rénal des donneurs cadavériques

I.1 Caractéristiques des donneurs et des receveurs

Dix-huit prélèvements de graisse péri-rénale issus de donneurs cadavériques ont été réalisés. Dix prélèvements provenaient de donneurs ECD et 8 de donneurs non ECD. Dix-sept patients ont été transplantés avec succès (un transplant a été secondairement exclu suite au résultat d'une biopsie préimplantatoire défavorable). Parmi les transplants issus de donneurs ECD, 4 ont présenté une reprise lente de fonction (RL) (n=3) ou une reprise retardée de fonction (RRF) (n=1). Les caractéristiques des donneurs sont présentées dans le tableau 1. Les caractéristiques des receveurs sont présentées dans le tableau 2.

	ECD n = 10 (56%)	Non ECD n = 8 (44%)	
Genre			
Homme	5 (87,5%)	7 (50%)	p= 0,15
Femme	5 (12,5%)	1 (50%)	
Age (année)	67 [60,5 – 72]	49,5 [45,3 – 55,5]	p=0,003
IMC	28,5 [26,2 – 32,5]	23,1 [21,3 – 25,7]	p=0,008
Créatininémie au clampage (µmol/l)	68 [61 – 95,5]	72,5 [56 – 83,6]	NS
HTA	4 (40%)	0	p=0,09
Dyslipidémie	1 (10%)	0	NS
Diabète	2 (20%)	1 (10%)	NS
Origine du décès			
Vasculaire	8 (80%)	5 (62,5%)	NS
AVP	0	1 (12,5%)	
Anoxie	1 (10%)	1 (12,5%)	
Traumatique	1 (10%)	1 (12,5%)	

Tableau 1. Caractéristiques démographiques des donneurs à critères élargis (ECD) et optimaux (non ECD). Les données quantitatives sont exprimées en médiane [1^{er} quartile – 3^{eme} quartile]. IMC = Indice de masse corporel, HTA = Hypertension artérielle, AVP = accident de la voie publique

	Transplant ECD n = 9 (56%)	Transplant Non ECD n = 8 (44%)	
Sexe			
Homme	3 (33,3%)	5 (62,5%)	NS
Femme	6 (66,6%)	3 (37,5%)	
Age (année)	63,5 [60,4– 71,7]	42,4 [35,6-50,2]	p=0,006
IMC	24,7 [23,8-26,4]	22,8 [20,1-27,9]	NS
Transplantation préemptive	1 (11,1%)	1 (12,5%)	NS
Durée dialyse (mois)	25,9 [21,5-32,1]	21,8 [2,4 – 45,5]	NS
Dyslipidémie	4 (44,4%)	1 (12,5%)	NS
Diabétique	2 (22,2%)	0	NS
HTA	9 (100%)	4 (50%)	p=0,029
Coronaropathie	2 (22,2%)	1 (12,5%)	NS
Durée ischémie froide	9,5 h [9 – 13,5]	9,75h [9,1 – 12,5]	NS
Reprise retardée de fonction	1 (11,1%)	0	NS
Reprise lente de fonction	3 (33,3%)	0	p=0,2

Tableau 2. Caractéristiques démographiques des receveurs et résultats en terme de reprise retardée de fonction ou reprise lente de fonction selon le profil ECD ou non ECD du donneur. IMC = Indice de masse corporel, HTA = Hypertension artérielle

Concernant le suivi biologique des receveurs, la mesure de la créatininémie a été effectuée à J5, J7, M1 et M3 post transplantation sauf pour un patient décédé à J8 d'une cause non urologique. Les patients greffés à partir d'un transplant ECD présentaient une tendance à un DFG plus faible à M1 avec une médiane de 35,5 [32 – 51,25] contre 77,5 [45,5 – 101,25] ml/min/1,73m² (p=0,058). Cette diminution de la fonction rénale était significative à M3 dans le groupe de patients receveurs de transplants ECD (42 [32,5 – 52,5] contre 70,5 [57,25 – 107,5] ml/min/1,73m², p=0,024) (Figure 8).

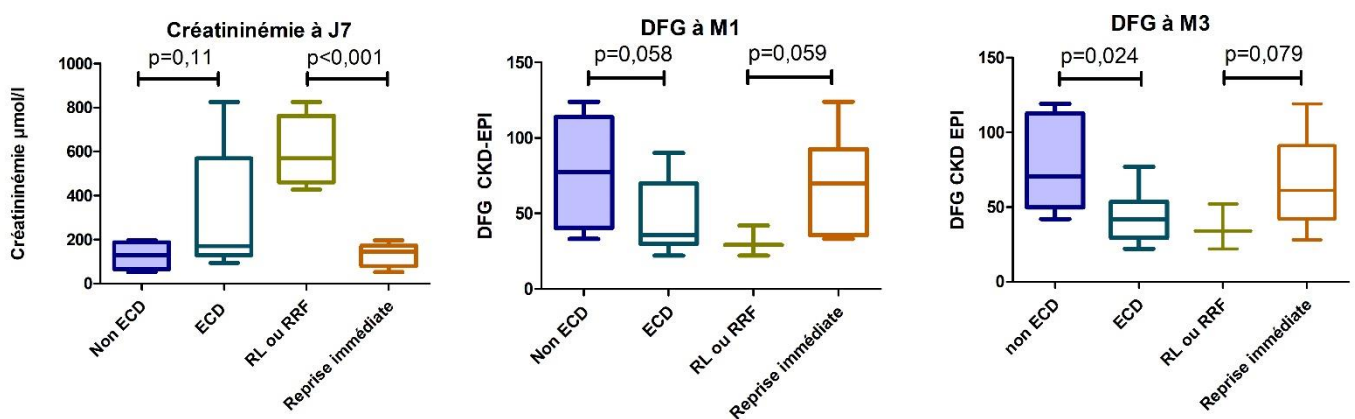


Figure 8. Les patients transplantés avec des organes issus de donneurs ECD présentent un débit de filtration glomérulaire (DFG) plus bas que les patients transplantés avec un transplant issu d'un donneur optimal à M3. La créatininémie à J7 est mesurée en médiane à 128,5 [65,8 – 178,3], 170 [158 – 560], 145 [93,8 – 170] et 578 µmol/l pour les groupes ECD (n=9), non ECD (n=8), RL ou RRF (n=4) et Reprise immédiate (n=13) respectivement. Le DFG à 1 mois est de 77,5 [45,5 – 101,25], 35,5 [32 – 51,25], 70 [37 – 90] et 29 ml/min/1,73m² pour ces mêmes groupes. Le DFG à 3 mois est de 70,5 [57,25 – 107,5], 42 [32,5 – 52,5], 61 [42 – 77] et 34 ml/min/1,73m². RL = reprise lente de fonction, RRF = reprise retardée de fonction.

I.2 - Analyse phénotypique des sous-populations de la FVS-TAP

Une analyse en cytométrie de flux des différentes sous-populations leucocytaires et non leucocytaires a été réalisée sur la FVS-TAP immédiatement après extraction selon la stratégie de gating illustrée en figure 9A. La distribution des sous-populations au sein de la FVS est très variable en fonction des donneurs.

La fraction leucocytaire CD45⁺ était majoritaire et représentait en médiane 71% [54% - 76%] des cellules dans la cohorte totale avec 69% [52%-72%] pour le groupe non ECD (n=8) contre 75% [58%-77%] pour le groupe ECD (n=10) (p=0,22).

Ce compartiment était composé de polynucléaires neutrophiles (11,4% [6%-16,3%]), de monocytes/macrophages CD14⁺ (21,6% [17,5% - 32,8%]), de lymphocytes (28% [20,6% - 41,5%]) sans différence significative entre les deux groupes. Les lymphocytes Natural Killer (NK) étaient significativement augmentés dans le groupe ECD par rapport au non ECD (respectivement 3,8% [2,3%-5,1%] vs 1,2% [0,4%-1,9%], p=0,01) (Figure 9B).

Au sein de la fraction non leucocytaire CD45⁻, les cellules endothéliales représentaient 7,2% [4,5% - 10%] et 8,8% [2,9%- 15%], les péricytes et les cellules transitionnelles 2,3% [1,4%-4,7%] et 4,1 [1,7% - 6,0%] respectivement entre donneurs non ECD et ECD, sans différence significative. Les cellules stromales étaient majoritaires au sein de la fraction CD45⁻ et représentaient 20,3% [16,4% - 44,2] des cellules de la FVS des donneurs non ECD et 12,4% [9% - 20,6%] dans la FVS-TAP des donneurs ECD (p=0,10) (Figure 9C).

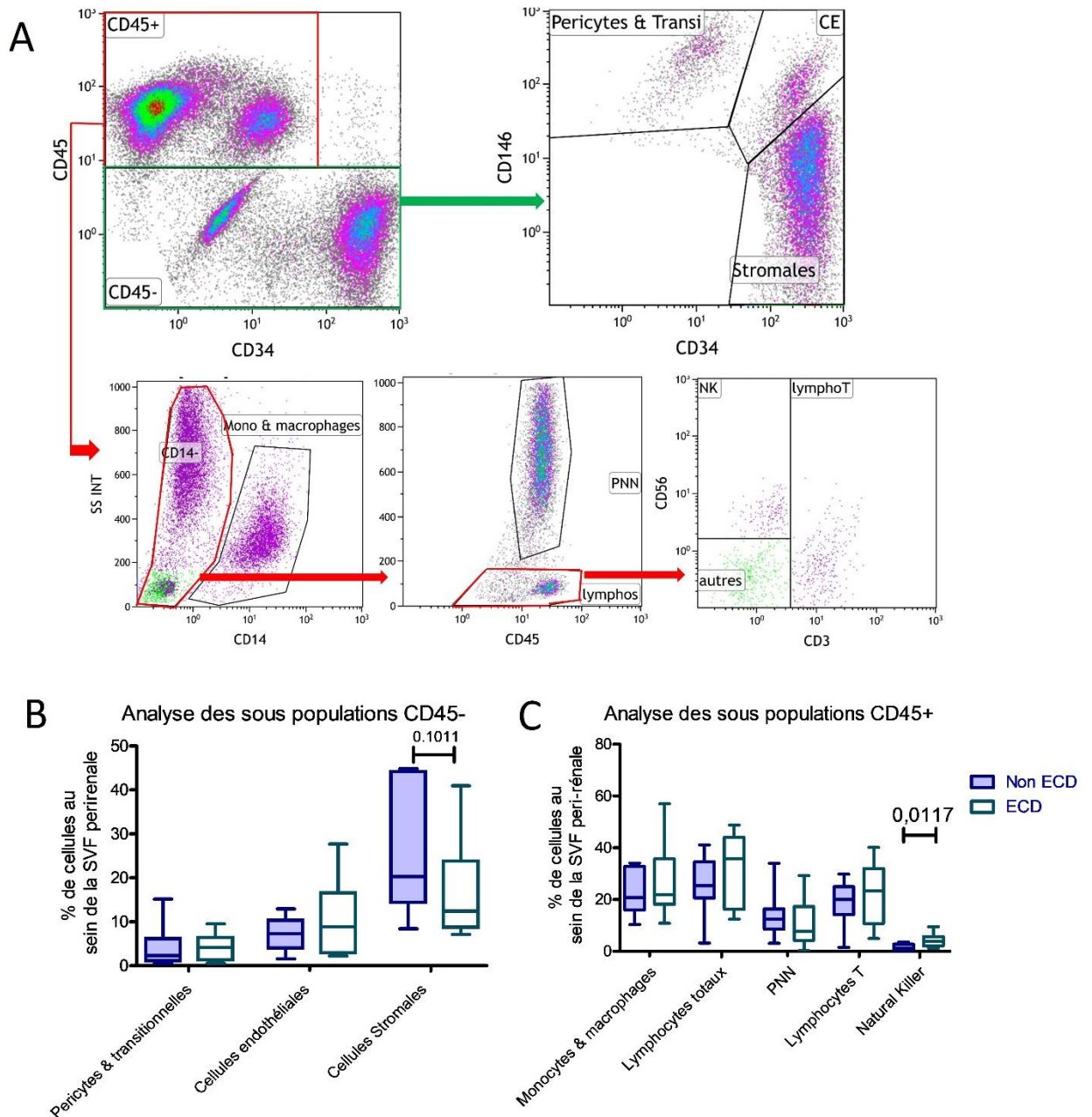


Figure 9. La FVS-TAP issue des donneurs ECD présente plus de lymphocytes NK et une tendance à moins de cellules stromales en comparaison avec la FVS-TAP issue des donneurs non ECD. (A) Stratégie de gating multiparamétrique en cytométrie de flux permettant d'analyser les différentes sous populations leucocytaires et régénératives au sein de la FVS en fonction de leur taille et des marqueurs de surface exprimés par les cellules. (B) Analyse des sous-populations régénératives (CD45-). (C) Analyse des sous-populations leucocytaires (CD45+).

I.3 Analyse du potentiel angiogénique de la FVS-TAP

Nous avons évalué l'activité angiogénique de la FVS-TAP de donneurs non ECD (n=8) et ECD (n=10) par deux méthodes complémentaires analysant la formation de structures pseudocapillaires (ou réseau) en Matrigel® (Figure 10A) et la capacité de bourgeonnement par la méthode des sphéroïdes (Figure 10C).

L'étude des Matrigel® (Figure 10B) mettait en évidence une grande hétérogénéité entre les donneurs avec une tendance statistique en faveur d'un potentiel angiogénique supérieur dans le groupe non ECD avec :

- Plus de clusters (cellules s'étant agrégées) présentant des tip cells (p=0,11) (cellules initiant les bourgeonnements depuis les clusters et guidant l'extension des réseaux) ;
- Plus de clusters présentant de stalk cells (p=0,12) (cellules contribuant à la formation des vacuoles générant la lumière des vaisseaux et produisant la matrice extra cellulaire) ;
- Plus de ramifications (extension des réseaux) issues des bourgeonnements (p=0,16).

L'analyse des sphéroïdes (Figure 10D) ne mettait pas en évidence de différence significative, que ce soit en termes de nombre de bourgeonnements (ou *Sprouts*), de nombre de jonctions par ramification ou de longueur totale du réseau formé.

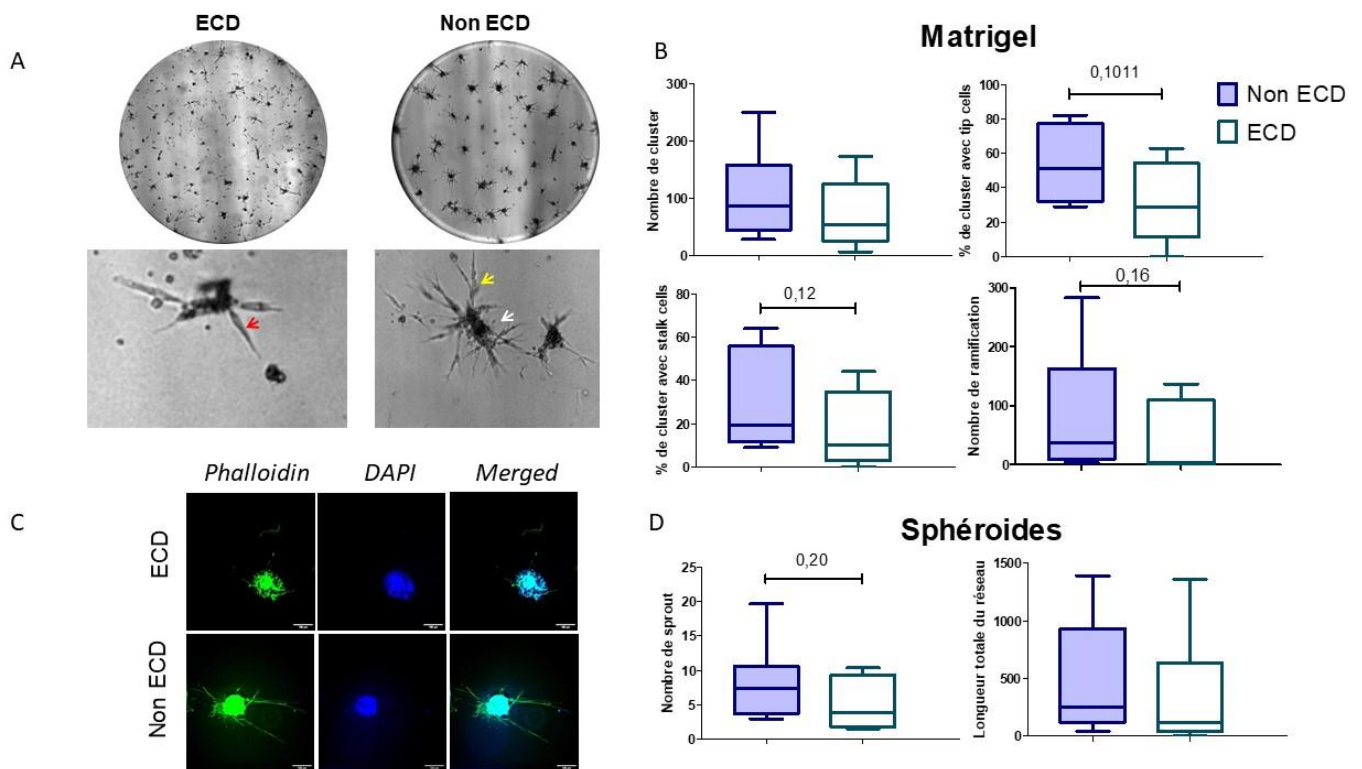


Figure 10. Le potentiel angiogénique de la FVS-TAP issue des donneurs ECD tend à être inférieur à celui des donneurs non ECD A) Image de microscopie optique de Matrigel® à J3 après ensemencement des cellules de FVS-TAP. Flèche blanche = cluster, flèche jaune = ramifications des bourgeonnements, flèche rouge = tip cells. B) Analyse quantitative de l'angiogenèse en Matrigel® avec quantification du nombre de clusters, du pourcentage de clusters présentant des tip cells et stalk cells et le nombre de ramifications par Matrigel®. C) Photographie de microscopie optique avec fluorescence de sphéroïdes. D) Analyse quantitative de l'angiogenèse par la méthode des sphéroïdes.

I.4 Analyse en PCR quantitative des transcrits liés à l'inflammation et la sénescence endothéliale au sein de la FVS-TAP

Une étude préalable par RNAseq comparant le transcriptome de 5 donneurs ECD et 5 donneurs non ECD avait permis d'identifier 9 gènes d'intérêt exprimés de façon différente en fonction du profil du donneur.

Nous avons mesuré en PCR quantitative les niveaux d'expression (taux de transcrits) de ces gènes liés à l'inflammation et à la sénescence : *CXCL1* (gro- α), *CCL4* (chemokine ligand 4), *IL6* (Interleukine 6), *IL8* (Interleukine 8), *IL1 β* (Interleukine 1 β), *IFN- γ* (Interferon γ), *NKG2D*, *Sirt1* (Sirtuine 1) et *Klotho* dans la FVS-TAP de 7 patients non ECD et 7 patients ECD.

Il n'y avait pas de différence significative du niveau d'expression de ces gènes entre les populations ECD et non ECD. Il existait une tendance en faveur d'un taux accru de transcrits d'IL6 et NKG2D chez les donneurs ECD. De plus, la comparaison du groupe RL ou RRF (n=3) versus reprise immédiate (n=11) avait mis en évidence une tendance en faveur d'une plus grande expression d'IL6 dans le groupe RL ou RRF (Figure 11).

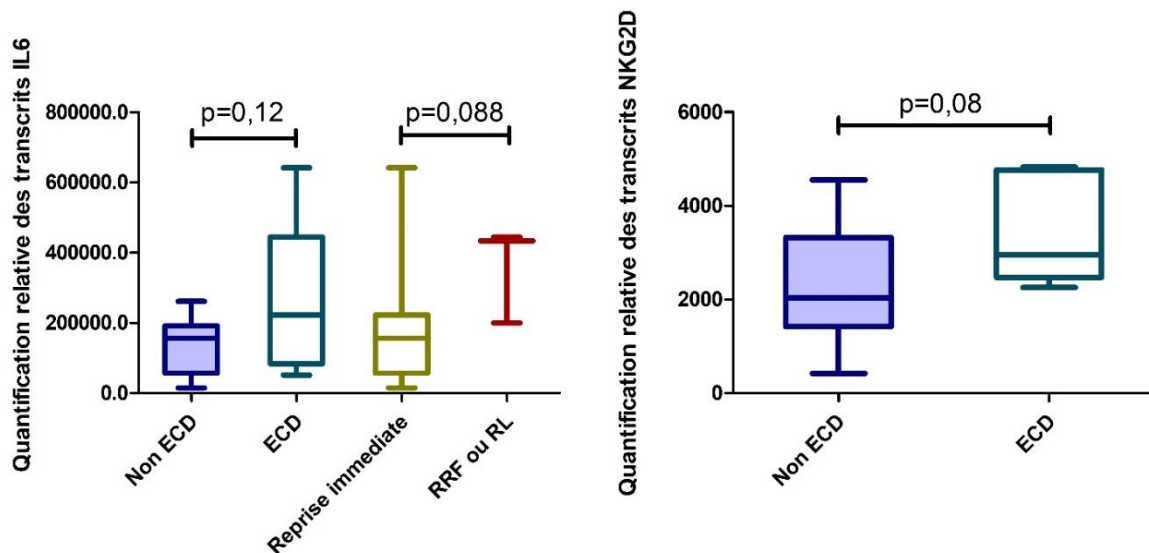


Figure 11. Il existe une tendance statistique à une transcription accrue des gènes *IL6* et *NKG2D* dans le groupe ECD. Quantification relative des transcrits *IL6* dans la FVS des donneurs ECD, non ECD, présentant une reprise immédiate de fonction et une reprise retardée ou lente de fonction. Quantification relative des transcrits *NKG2D* dans la FVS des donneurs ECD et non ECD

II. Caractérisation de lignées endothéliales *ECFC* issues de la FVS-TAP

Après avoir étudié les propriétés phénotypiques, la fonction angiogénique et les transcrits de la FVS-TAP totale, nous avons plus spécifiquement étudié son contingent endothélial. Les lignées de cellules endothéliales (*ECFC*) ont été obtenues à partir de la FVS-TAP de 4 donneurs par une technique de tri par billes magnétiques marquées au CD 144 (marqueur membranaire spécifiquement endothélial). Deux provenaient de donneurs ECD et 2 de donneurs non ECD.

II.1 Analyse phénotypique des lignées endothéliales issues de la FVS-TAP

Un contrôle post-tri en cytométrie de flux des lignées d'*ECFC* isolées confirmait une forte expression du marqueur spécifiquement endothélial CD144 et attestait ainsi de la pureté du contingent de cellules triées. Le niveau d'expression membranaire, jugé par l'intensité de fluorescence (MFI), des marqueurs HLA-I, HLA-II, CD31 (PECAM-1, rôle dans la régulation de l'inflammation), CD32 et CD54 (ICAM-1, rôle dans l'adhésion des leucocytes à la surface de l'endothélium et de leur migration au sein des tissus) avait par ailleurs été analysé.

A l'état basal, les lignées endothéliales ECD présentaient une expression de surface plus élevée des molécules d'histocompatibilité HLA de classe I comparativement aux lignées non ECD. Concernant le marqueur d'activation endothélial CD54, son expression semblait légèrement plus marquée par les lignées non ECD par rapport aux lignées ECD. En revanche, il n'avait pas été montré de différence d'expression des marqueurs CD144, CD31 et CD32 entre les populations ECD et non ECD (Figure 12).

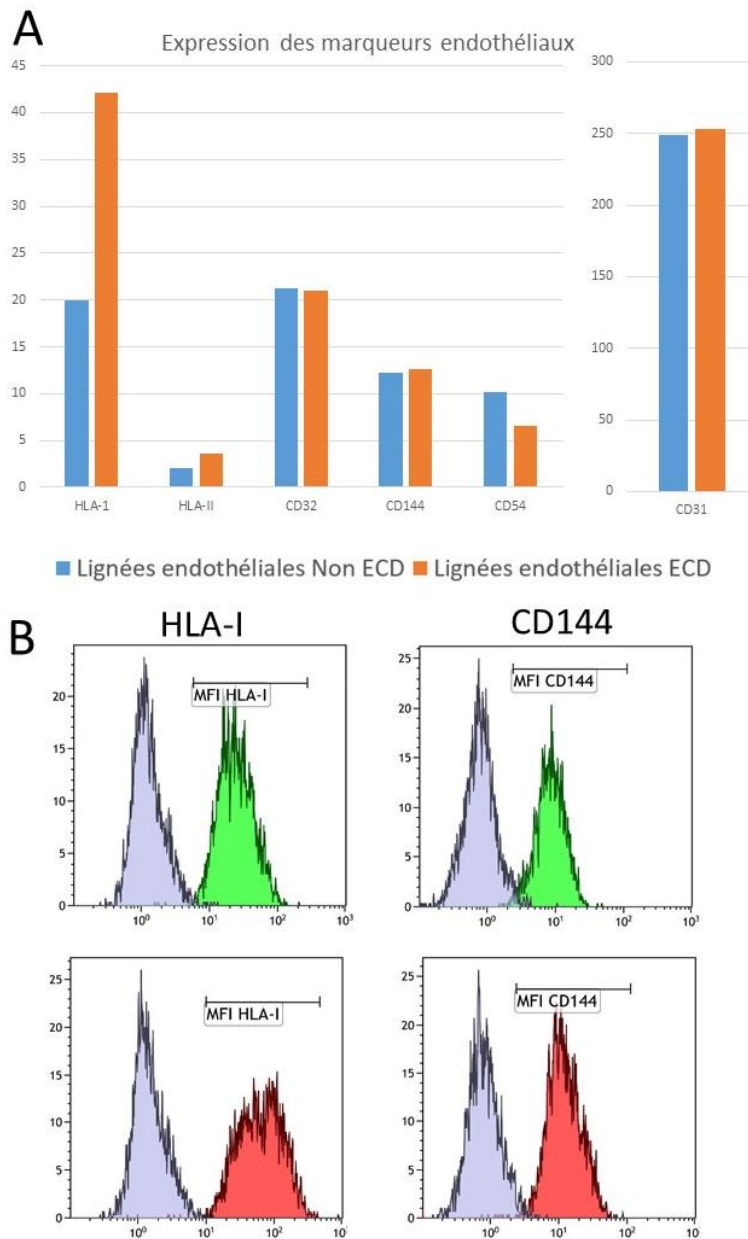


Figure 12. Caractérisation phénotypique des ECFC issues de la FVS-TAP. (A) Expression de différents marqueurs membranaires par les ECFC issues de la FVS-TAP. Les ECFC de la FVS-TAP des donneurs ECD expriment plus fortement les marqueurs HLA-I. Celles des donneurs non ECD plus fortement le CD54. (B) Le signal des marqueurs HLA-I et CD144 des patients non ECD est représenté par le graphique vert. En rouge, le signal des patients ECD. En gris le signal du contrôle isotypique (contrôle négatif).

II.2 Evaluation de l'activité angiogénique de lignées endothéliales issues de donneur ECD et non ECD

Le potentiel angiogénique des lignées endothéliales dérivées de la FVS-TAP des 4 donneurs a été mesuré par les tests de sphéroïdes et en Matrigel®.

L'analyse des sphéroïdes permettait de mettre en évidence un nombre de bourgeonnements plus élevé chez les donneurs non ECD (médiane 12,1 vs 7,5), un nombre de ramifications également supérieur (médiane : 5,5 vs 0,3) et enfin une longueur totale du réseau plus importante de 2236µm contre 128µm. (Figure 13A)

L'observation des Matrigel®, suggérait une plus grande organisation des réseaux formés, avec des clusters mieux individualisés ainsi qu'un réseau plus fin et plus ramifié dans le cas des donneurs non ECD (Figure 13B).

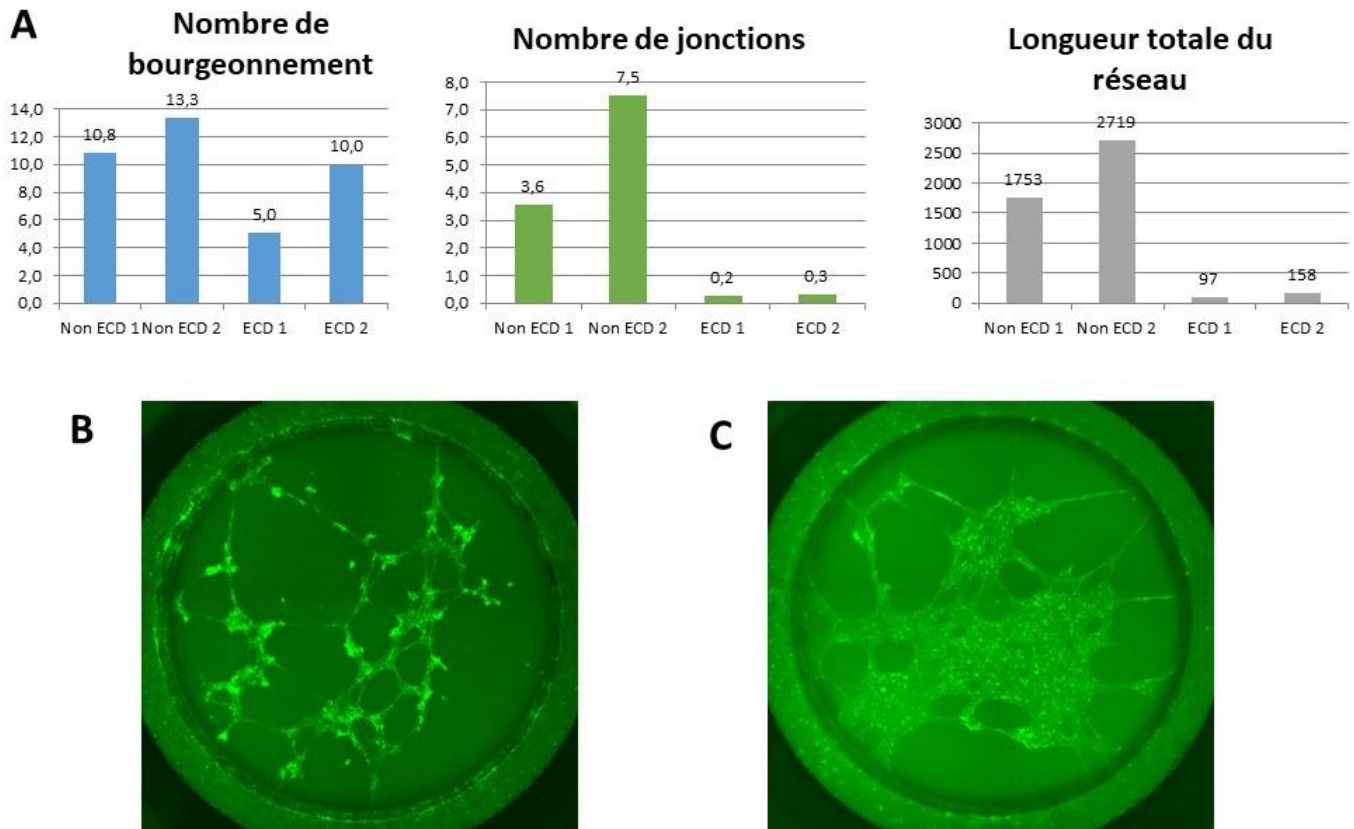


Figure 13. Les lignes endothéliales issues de donneurs non ECD présenteraient un meilleur potentiel angiogénique que celles issues de donneurs ECD. A) Analyse quantitative de l'angiogenèse par la méthode des sphéroïdes avec quantification du nombre de bourgeonnements, du nombre de jonction et de la longueur totale du réseau. B) Photographie de Matrigel® à H6ensemencé par la lignée non ECD1. Les réseaux formés sont fins et organisés. De nombreux clusters s'individualisent. C) Photographie de Matrigel® à H6ensemencé par la lignée ECD 2. Les réseaux sont larges et les clusters ne sont pas individualisés.

III. Evaluation de l'effet paracrine de facteurs contenus dans le liquide de conservation sur les *ECFC* issus de la FVS-TAP

Nous avons ensuite dosé la cytokine inflammatoire IL6 dans les liquides de conservation et évalué l'effet de ces liquides sur le statut inflammatoire, la sénescence et l'apoptose des lignées endothéliales (*ECFC*) issues de la FVS-TAP.

III.1 Dosage de la cytokine inflammatoire Interleukine-6 dans les liquides de conservation des transplants

Nous avons formulé l'hypothèse que le LC, via l'accumulation de substances métaboliques issues du transplant, pouvait être représentatif de « l'environnement inflammatoire » du donneur.

Compte tenu de l'expression accrue des transcrits IL6 observée au sein de la FVS-TAP de donneurs ECD, nous avons quantifié le taux d'IL6 soluble dans les échantillons de liquide de conservation des transplants par ELISA. Nous avons montré que le taux d'IL6 soluble tendait à être plus élevé dans le groupe ECD (n=9, 89,2pg/ml [28,9–126,5]) comparativement au groupe non ECD (n=6, 21,3pg/ml [14,1–52,4], p=0,18) (Figure 14A).

Ces dosages ont été confrontés aux données issues de l'étude de la FVS et aux paramètres des receveurs.

Le taux d'IL6 soluble tendait à être associé au taux de transcrits d'IL6 quantifié dans la FVS-TAP (r=0,54, p=0,09). Il était significativement corrélé au pourcentage de lymphocytes NK dans la FVS-TAP (r=0,55, p=0,035) (Figure 14B).

Nous notions également une corrélation entre une concentration élevée en IL6 dans le liquide de conservation et un DFG du receveur plus bas à 1 mois (r = -0,67, p=0,008) et à 3 mois (r =-0,69, p=0,0067) post transplantation. (Figure 14C).

La concentration la plus faible en IL6 était retrouvée dans le groupe ECD et était mesurée à 5,5 pg/ml. La concentration la plus importante était retrouvée également dans ce groupe et était mesurée à 299,7 pg/ml. Elle concernait un transplant qui n'avait pas été perfusé sur machine (secondaire à un problème technique), ce qui suggérait que la méthode de conservation (perfusion sur machine pour donneur ECD versus

simple immersion dans le cas des transplants non ECD) n'était a priori pas un biais majeur pour expliquer les taux accrus d'IL6 dans le groupe ECD.

La concentration en cytokine inflammatoire dans le LC n'était en revanche pas liée à la durée de contact entre l'organe et le LC (Figure 14D). Il n'existait en effet aucune association entre la concentration en IL6 soluble et la durée d'ischémie froide.

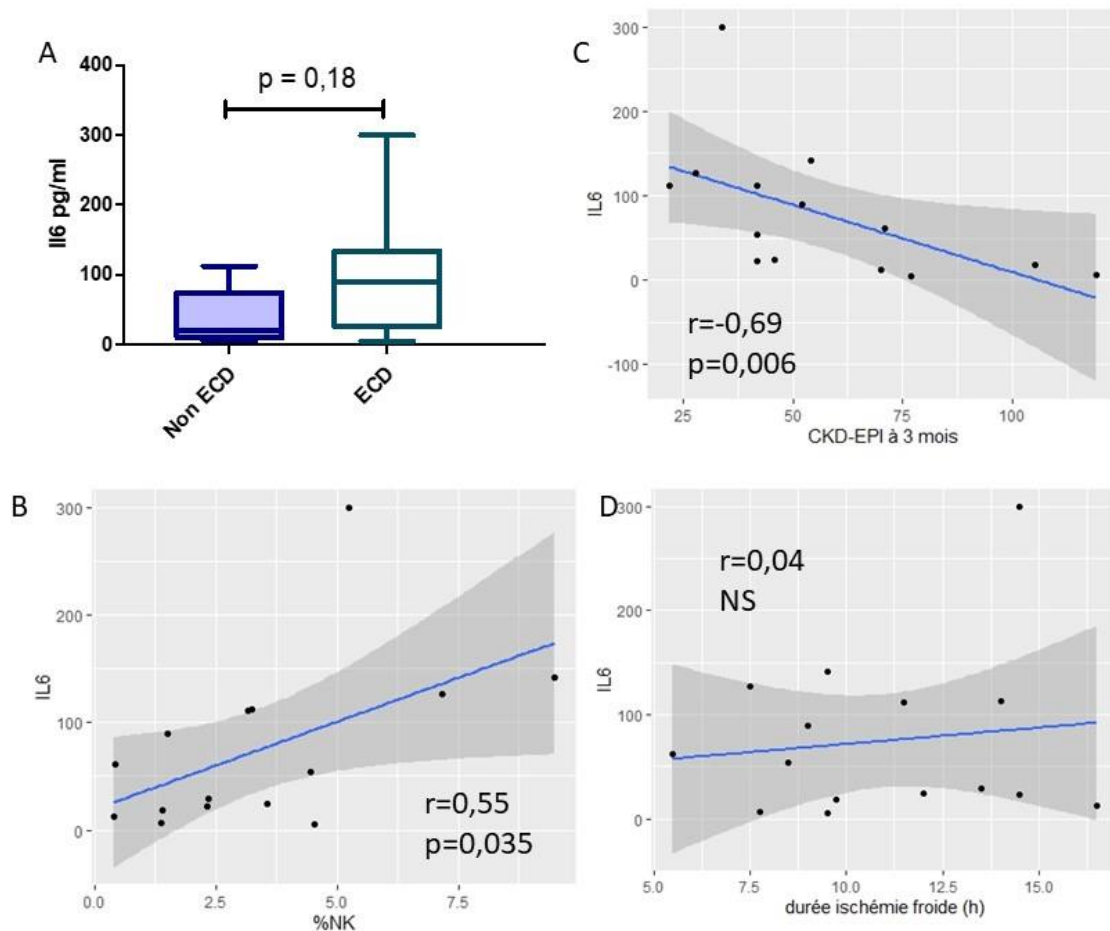


Figure 14. La concentration en IL6 soluble dans les LC tend à être supérieure dans le groupe ECD (A) et est corrélée au pourcentage de cellules NK présentes dans la FVS-TAP (B) et inversement corrélée à la fonction rénale du receveur à 3 mois (C) et n'a pas de lien significatif avec la durée d'ischémie froide (D).

III.2 Altération du profil phénotypique et transcriptionnel de l'endothélium en réponse aux liquides de conservation

Les lignées endothéliales ont été exposées aux LC des donneurs ECD (n=8) et non ECD (n=3) pendant 24h. Une stimulation par Interféron- γ (IFN) à 50ng/ml et Tumor Necrosis Factor (TNF) à 20ng/ml constituait le contrôle positif.

Sur une lignée endothéliale non ECD exposée au TNF/INF, l'analyse en cytométrie de flux avait mis en évidence une augmentation de l'expression de 101 fois du marqueur CD54 (ICAM-1), de 6 fois des antigènes HLA de classe I et de 20 fois des antigènes HLA de classe II par rapport aux conditions basales. Elle induisait une baisse de 50% de l'expression du CD31 et n'avait pas d'impact sur l'expression de CD32 et CD144.

Les LC ECD, évalués en référence à un LC « vierge », ne semblaient pas induire de modification d'expression des marqueurs CD144 CD31, HLA-I et HLA-II sur la lignée endothéliale non ECD 1 testée. En revanche, nous observons, en fonction des LC testés, une surexpression plus ou moins marquée d'ICAM-1 (ratio médian 1,6 [1,4 – 6,7]) (Figure 15B).

Sur deux lignées endothéliales non ECD, l'analyse des transcrits par qPCR, après stimulation par le TNF/INF induisait une diminution de 4 fois du taux de transcrits CD144, une augmentation de 2,5 fois des transcrits codant pour la chémokine CXCL1 (chémokine sécrétée par l'endothélium et ayant un pouvoir attractant sur les leucocytes) et une augmentation de 2 fois des transcrits d'IL6.

Les LC de 8 donneurs ECD analysés en référence aux LC de trois donneurs non ECD n'induisaient pas de modulation significative de l'expression des gènes CD144 (VE-cadhérine) et IL6. En revanche, le taux de transcrits CXCL1 était 4,32 fois supérieur en réponse au LC des donneurs ECD ($p=0,024$) (Figure 15C).

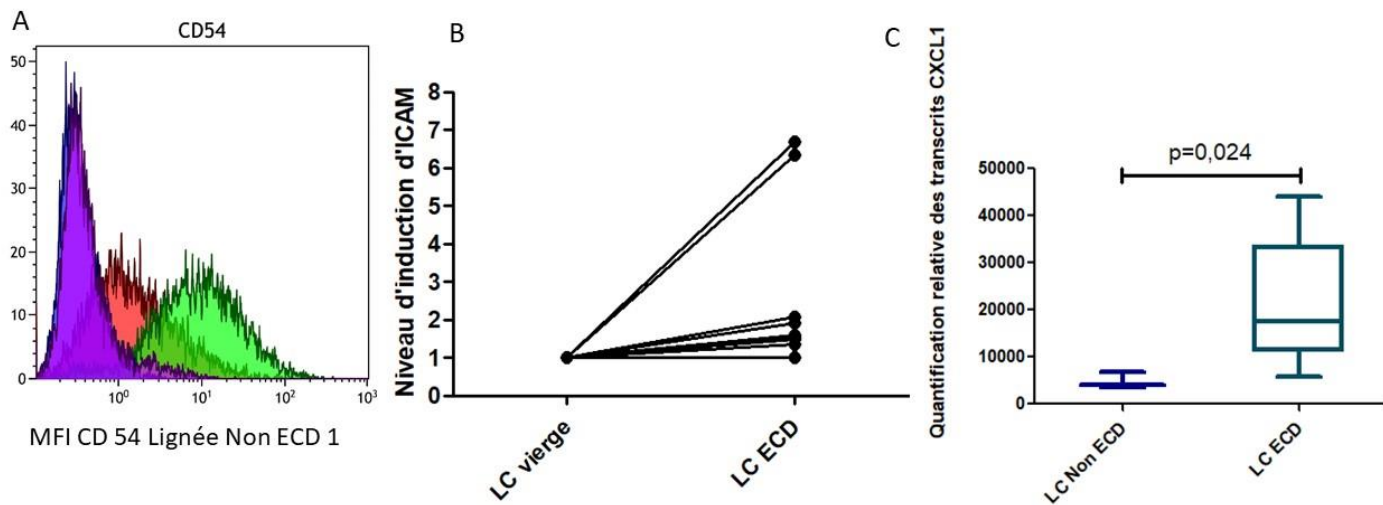


Figure 15. La stimulation de la lignée endothéliale ECD issue de la FVS-TAP par les LC des donneurs ECD induit une surexpression plus ou moins marquée du marqueur d'activation ICAM-1 et la transcription du gène CXCL1. (A) Illustration d'un analyse en cytométrie de flux de l'expression du marqueur CD54. En vert signal secondaire à une stimulation par un LC issu d'un donneur ECD. En rouge, signal secondaire à une stimulation par un LC vierge. En violet, signal du contrôle isotypique. (B) Niveau d'induction d'ICAM-1 mesuré en cytométrie. (C) Quantification relative des transcrits du gène CXCL1 en réponse aux différents LC.

III.3 Evaluation de la sénescence endothéliale en réponse aux liquides de conservation

Les cellules endothéliales issues de deux lignées non ECD (non ECD1 et non ECD2) ont été exposées à un panel de liquides de conservation ou stimulées par TNF/IFN pendant 24h avant mesure du taux de sénescence par marquage à la β -galactosidase. A l'état basal, 7,3% des cellules non ECD1 et 4,6% des cellules non ECD2 étaient sénescents. Après 24h de stimulation par le TNF/INF, il n'existait pas d'augmentation du taux de cellules sénescents (6,8% et 2,8% respectivement).

Les LC issus des donneurs ECD (n=4) n'augmentaient pas de manière significative le pourcentage de cellules sénescents mesuré à 8,7% [5,2% - 12,9%] et 5,3% [5,0% - 7,4%] dans les lignées cibles non ECD1 et non ECD2 respectivement. Cet effet n'était pas significativement différent de celui associé au LC provenant des donneurs non ECD (5,5% [3,6% - 6,7%] et 8,8% [8,1% - 10,2%] parmi les cellules des lignées cibles non ECD1 et non ECD2 respectivement).

Ces résultats indiquaient que les facteurs paracrines présents dans les LC issus de donneurs ECD n'avaient pas d'activité pro-sénescence majeure sur l'endothélium. Cependant, nous avons observé dans ces tests de sénescence une grande hétérogénéité dans la morphologie et le nombre de cellules restant adhérentes après exposition aux LC, pouvant contribuer à sous-estimer le pourcentage de cellules sénescents. Ceci avait motivé le test complémentaire d'un effet pro apoptotique de ces LC.

III.4 Evaluation de l'apoptose endothéliale en réponse aux liquides de conservation

Les cellules endothéliales issues de la FVS-TAP d'un donneur non ECD ont été exposées aux différents LC pour mesurer l'induction d'une apoptose évaluée en cytométrie de flux par un double marquage Annexine V (marqueur d'altération de la membrane cytoplasmique) et 7-AAD (marqueur d'exposition de l'ADN).

Ce marquage permettait de classer les cellules en trois catégories : cellules viables (Annexine V- et 7AAD-), cellules pré-apoptotiques (Annexine V+ et 7AAD-) et cellules en apoptose (Annexine V+ et 7AAD+).

Nous n'observons pas de différence en termes de viabilité ou du pourcentage de cellules en pré-apoptose avec une médiane à 73,8% [65,9 – 76,4%] et 17,4% [15,1% - 22,6%] respectivement.

Les LC des donneurs ECD (n=9) induisaient une augmentation significative de l'apoptose des cellules endothéliales cibles (10,7% [7,8% - 12,1%]) par rapport aux LC des donneurs non ECD (n=6, 5,6% [5,1% - 8,1%]) p=0,049. (Figure 16)

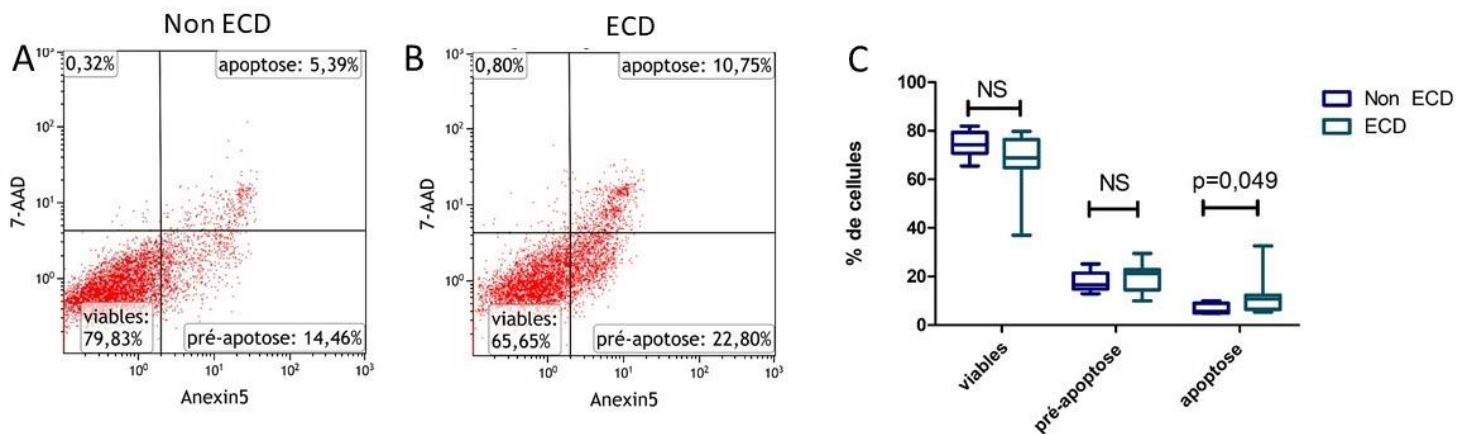


Figure 16. L'exposition des lignées endothéliales issues de la FVS-TAP aux LC des donneurs ECD induit une apoptose. Illustration de l'analyse en cytométrie de flux de l'induction d'une apoptose par un LC issu d'un donneur non ECD (A) et d'un donneur ECD (B). Il n'y a pas de différence en termes de viabilité cellulaire ou de cellule en pré-apoptose dans les deux groupes (C)

III.5 Modulation du marqueur d'activation endothéliale ICAM-1 par la protéine Klotho

Nous avons enfin testé l'hypothèse que l'activation endothéliale secondaire à la culture en présence de LC pouvait être limitée par la protéine Klotho, documentée pour ses propriétés anti-sénescence et anti-inflammatoires. Nous avons donc sélectionné 2 LC ayant induit la surexpression du CD54 la plus importante en cytométrie de flux pour tester l'effet de l'ajout de la protéine Klotho à 5 ng/ml (Active Human α -Klotho protein fragment; Abcam, Cambridge, UK) aux liquides de conservation.

Nous avons confirmé l'induction de l'expression endothéliale de CD54 des cellules exposées aux liquides de perfusion avec une augmentation de la MFI de CD54 par le LC-1, le LC-2, analysée en référence aux valeurs obtenues en présence du LC contrôle vierge ou du milieu de culture classique (EGM2-MV).

Bien que préliminaires, nos résultats suggéraient que l'ajout de Klotho permettait de limiter cette surexpression d'ICAM-1 induite par ces deux LC (Figure 17).

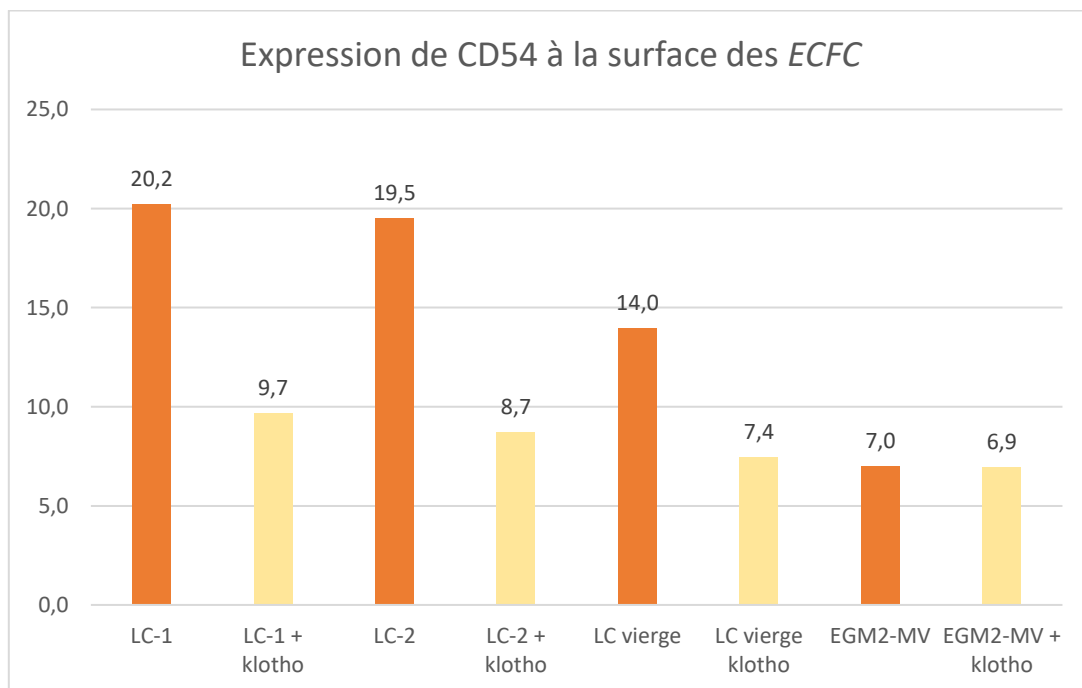


Figure 17. La surexpression d'ICAM-1 par une lignée endothéliale après stimulation par les LC des donneurs ECD semble être atténuée par la protéine Klotho. Analyse en cytométrie de flux de l'expression de surface de CD54/ICAM par les cellules endothéliales issues de la FVS-TAP en réponse aux LC de donneurs ECD avec et sans Klotho.

Discussion

Dans ce travail prospectif, nous proposons une analyse extensive de la distribution cellulaire, du potentiel angiogénique et du profil transcriptionnel inflammatoire de la FVS issue du tissu adipeux péri-rénal dans une population de donneurs cadavériques ECD et non ECD.

La caractérisation des compartiments leucocytaires CD45+ et régénératifs CD45- au sein de la FVS-TAP révèle une très forte variabilité interindividuelle. Nos observations soulignent une absence d'altération quantitative du compartiment endothélial mais suggèrent une diminution de la proportion de cellules souches/stromales mésenchymateuses (CSM) dans le contexte ECD. Au vu de l'abondante littérature documentant les propriétés régénératives, anti-inflammatoires et immunomodulatrices des CSM et leurs nombreuses applications en thérapie cellulaire pour limiter les lésions d'ischémie reperfusion (68,69), cette raréfaction des CSM chez certains donneurs ECD pourrait être associée à une moindre capacité à contrôler l'inflammation et à soutenir la réparation endothéliale.

Nous apportons la première évidence que la FVS-TAP de donneurs ECD présente une infiltration par les lymphocytes de l'immunité innée NK quantitativement plus importante que la FVS-TAP de donneurs non ECD. Cette infiltration NK, caractérisée dans des biopsies de transplants prélevées dans le cadre des suivis de greffes rénales, a récemment pu être associée à une moindre survie du transplant (70). Les transcrits d'activation NK ont également pu être identifiés comme des marqueurs spécifiques du rejet humoral (71). Une étude réalisée au sein de l'équipe d'accueil a par ailleurs montré l'importance de l'activation cytotoxique anticorps dépendante des cellules NK (ADCC) dans la mise en place des lésions endothéliales du transplant (42,72). Toutes ces données sont cependant relatives à des travaux réalisés chez le receveur et peu de données sont disponibles chez le donneur.

Une étude récente montre néanmoins que le taux de transcrit codant pour le récepteur activateur de la cytotoxicité NK NKG2D analysé dans des biopsies rénales avant déclampage du transplant est un marqueur prédictif de l'évolution péjorative de la fonction rénale (73). Cependant, l'accès à ces biopsies préimplantatoires semble difficilement envisageable pour la recherche.

Il s'agit donc ici de la première étude proposant un modèle alternatif non invasif, utilisant la FVS issue du tissu adipeux péri-rénal du donneur, considéré comme un déchet opératoire lors du prélèvement d'organe, comme un matériel d'étude de la qualité du transplant rénal et de sa vasculo-compétence.

Par ailleurs, notre étude est la première à suggérer que l'infiltration tissulaire par les cellules inflammatoires peut préexister chez le donneur et s'associer à la libération de facteurs paracrines qui favorisent l'activation et la lésion endothéliale de certains transplants ECD.

Chez le receveur, ces processus inflammatoires qui favorisent le recrutement tissulaire de leucocytes activés ont été identifiés comme des mécanismes clé de la dysfonction endothéliale (74,75).

Cette inflammation endothéliale préalable à la transplantation pourrait s'associer à une plus grande vulnérabilité de l'endothélium, une moindre résistance des transplants marginaux aux lésions d'ischémie reperfusion (77) et une moindre capacité de réponse au stress allo-immun et urémique imposé par le receveur (78).

Notre étude suggère ainsi que ces processus délétères liés à l'inflammation sont en place avant même la transplantation chez certains donneurs ECD.

Cette hypothèse est corroborée par le fait que le dosage d'IL6 soluble dans les liquides de conservation de transplants ECD semble indiquer qu'un taux accru d'IL6 est significativement associé à la moindre fonction rénale à 1 mois ($r = -0,67$, $p=0,008$) et à 3 mois ($r = -0,69$, $p=0,0067$) post transplantation. Comme précédemment décrit dans la littérature (79–81), ces résultats sont ainsi en faveur d'un rôle de l'IL6 dans les processus pro-inflammatoires ou pro-sénescents associés à la dysfonction endothéliale de transplants prélevés chez les donneurs à haut risque cardiovasculaire. Par ailleurs, nos données tendent à montrer que ce taux de protéine soluble dosé dans les LC est corrélé avec celui des transcrits d'IL6 dosé dans la FVS-TAP. Bien que l'effectif limité des échantillons traités lors de ce travail ne permette pas d'atteindre la significativité statistique, dans une étude plus large (travaux de thèse du Dr Boissier, manuscrit soumis en co-auteur), ce taux élevé de transcrits d'IL-6 a pu être associé à une dysfonction précoce des transplants ECD.

L'accès à la fraction vasculaire stromale de la graisse péri-rénale nous a permis d'isoler spécifiquement les cellules endothéliales de donneurs par un tri magnétique. Bien qu'aucune différence quantitative du compartiment endothélial n'ait pu être objectivée au sein de la FVS, l'étude de ces lignées semble révéler une immunogénicité plus importante attestée par une plus forte expression de HLA de classe I chez les donneurs ECD. Cet accès à des cellules endothéliales en culture nous a par ailleurs permis d'étudier les mécanismes endothéliotoxiques liés à l'environnement ECD, tel que modélisé par les liquides de conservation.

Nous avons donc tenté de caractériser l'impact de l'environnement paracrine propre au donneur ECD sur des lignées endothéliales issues de la FVS-TAP de donneurs optimaux, analysés en référence à des cellules soumises à un fort stimulus inflammatoire TNF/INF- γ (82).

Une induction du marqueur d'activation endothélial ICAM-1 à la surface d'une lignée issue d'un donneur jeune a été observée en réponse aux liquides de conservation issus des donneurs ECD. Ceci suggère que des facteurs paracrines libérés par le rein ECD sont susceptibles d'activer l'endothélium et de favoriser le recrutement leucocytaire dans le tissu péri-rénal. Ce taux d'induction est très variable mais peut atteindre un taux 6 fois supérieur à celui observé avec le liquide de conservation vierge. L'analyse en qPCR de la stimulation des cellules endothéliales par les LC de donneurs ECD a montré une augmentation de la transcription du gène CXCL1 aussi connu sous le nom de GRO- α . Ce gène code pour une chémokine inflammatoire sécrétée notamment par les cellules endothéliales et est connue pour son pouvoir chémoattractant sur les leucocytes. CXCL1 semble également jouer un rôle dans la néoangiogenèse et a pu être identifié comme une cible pour limiter la voie IL6 dans la progression tumorale (83). Comme documenté dans un modèle tumoral (84,85), l'induction spécifique de CXCL1 dans le contexte ECD, pourrait ainsi participer au recrutement tissulaire des cellules immunes activées et conditionner des mécanismes altérant l'homéostasie vasculaire du transplant en préimplantatoire.

Au vu de ces expériences préliminaires, la sénescence endothéliale ne semble pas constituer un mécanisme majeur de cette réponse aux facteurs relargués par le transplant ECD dans le liquide de perfusion. Au-delà de l'induction de marqueurs endothéliaux tels ICAM-1, le liquide de perfusion de certains donneurs ECD semble cependant induire une mort cellulaire endothéliale telle qu'objectivée par les résultats préliminaires des tests d'apoptose.

Enfin, nous avons envisagé une approche préliminaire utilisant les cultures d'*ECFC* de donneur jeunes, pour tester si l'ajout de Klotho, une protéine produite par le rein et connue pour ses propriétés anti-inflammatoires (86) et proangiogéniques (87) pouvait limiter les effets des facteurs paracrines contenus dans le LC ECD sur l'activation endothéliale ICAM-1. Il s'agit d'une approche encourageante qui ouvre des perspectives pour définir des cibles potentielles afin d'antagoniser les effets délétères de molécules inflammatoires tels que l'IL6 et CXCL1 et limiter ainsi la vulnérabilité endothéliale des donneurs marginaux avant transplantation.

Le développement actuel des machines de perfusions hypothermiques voire normothermiques (88) en tant que *gold standard* du conditionnement des transplants marginaux offre ainsi des perspectives de régulation active du métabolisme et des possibilités d'intervention pharmacologiques ou cellulaires (MSC) (89) visant à limiter l'inflammation dans le but de préserver la fonction des transplants ECD.

Notre étude exploratoire présente bien sûr de nombreuses limites liées notamment à la taille de l'effectif des donneurs analysés. Par ailleurs, la transposabilité de ces données obtenues sur le TAP au parenchyme du transplant rénal doit être confirmée.

Conclusion

Notre étude est la première à isoler et caractériser la FVS à partir du tissu adipeux péri-rénal de donneur et à utiliser cette FVS-TAP comme un modèle d'étude non invasif de l'endothélium du transplant en pré-implantatoire. Nos observations ne montrent pas d'altération franche du compartiment endothélial chez le donneur ECD analysé en référence à un donneur optimal.

En revanche, nous avons identifié un profil inflammatoire de la FVS des donneurs marginaux caractérisé par une infiltration NK plus importante, une diminution du contingent mésenchymateux et une activation des voies transcriptionnelles liées à l'inflammation. Ce caractère inflammatoire, retrouvé dans les liquides de perfusion, est susceptible d'affecter la qualité de l'endothélium, et donc la résistance aux lésions d'ischémie-reperfusion des transplants ECD. L'identification de la voie de l'interleukine-6, impliqué dans la propagation de l'inflammation au cours de nombreuses pathologies rénales, ouvre des perspectives d'optimisation de la conservation pré-implantatoire des transplants ECD.

Cette optimisation pourrait alors passer par un « conditionnement thérapeutique » des organes par des molécules ou des cellules anti-inflammatoires ajoutées dans les liquides de conservation.

Liste des abréviations

ABM : Agence de biomédecine

ADN : Acide désoxyribonucléique

AP-HM : Assistance publique des hôpitaux de Marseille

ARN : Acide ribonucléique

cDNA : Acide désoxyribonucléique complémentaire

CSM : Cellules souches mésenchymateuses

DDAC : Donneur décédé d'un arrêt circulatoire

ECD : *Extended criteria donor*, donneur à critères élargis

ECFC : *Endothelial colony forming cells*

FVS : Fraction vasculaire stromale

FVS-TAP : Fraction vasculaire stromale issue du tissu adipeux péri-rénal

HLA : *Human leukocyte antigen*

HTA : Hypertension artérielle

IRCT : Insuffisance rénale chronique terminale

MFI : *Median fluorescent intensity*, intensité médiane de fluorescence

NK : Natural killer

PNN : Polynucléaire neutrophile

R.E.I.N (Réseau, Epidémiologie, Information, Néphrologie)

RGPD : Règlement général sur la protection des données

RL : Reprise lente de fonction

RRF : Reprise retardée de fonction

TAP : Tissu adipeux péri-rénal

Liste des figures et tableaux

Figure 1. *Dessin de René Küss*

Figure 2. *Portrait de René Küss*

Figure 3. *Synthèse du rapport annuel R.E.I.N 2017.*

Figure 4. *Activité de transplantation rénale en 2017 selon le type de donneurs.*

Figure 5. *Survie des transplants selon leur origine.*

Figure 6. *Résumé du protocole expérimental concernant l'analyse de la FVS.*

Figure 7. *Résumé du protocole expérimental concernant l'analyse de la des lignées endothéliales exposées aux liquides de conservation des organes.*

Tableau 1. *Caractéristiques démographiques des donneurs à critères élargis (ECD) et optimaux (non ECD).*

Tableau 2. *Caractéristiques démographiques des receveurs et résultats en terme de reprise retardée de fonction ou reprise lente de fonction selon le profil ECD ou non ECD du donneur.*

Figure 8. *Les patients transplantés avec des organes issus de donneurs ECD présentent un débit de filtration glomérulaire (DFG) plus bas que les patients transplantés avec un transplant issu d'un donneur optimal à M3.*

Figure 9. *La FVS-TAP issue des donneurs ECD présente plus de lymphocytes NK et une tendance à moins de cellules stromales en comparaison avec la FVS-TAP issue des donneurs non ECD.*

Figure 10. *Le potentiel angiogénique de la FVS-TAP issue des donneurs ECD tend à être inférieur à celui des donneurs non ECD.*

Figure 11. *Il existe une tendance statistique à une transcription accrue des gènes IL6 et NKG2D dans le groupe ECD.*

Figure 12. *Caractérisation phénotypique des ECFC issues de la FVS-TAP.*

Figure 13. *Les lignes endothéliales issues de donneurs non ECD présenteraient un meilleur potentiel angiogénique que celles issues de donneurs ECD.*

Figure 14. *La concentration en Il6 dans les LC tend à être supérieure dans le groupe ECD et est corrélée au pourcentage de NK présent dans la FVS-TAP ainsi qu'à la fonction rénale du receveur à 3 mois mais est indépendante de la durée d'ischémie froide.*

Figure 15. *La stimulation de la lignée endothéliale ECD 1 issue de la FVS-TAP par les LC des donneurs ECD induit une surexpression plus ou moins marquée du marqueur d'activation ICAM-1 et la transcription du gène CXCL1.*

Figure 16. *L'exposition des lignées endothéliales issues de la FVS-TAP aux LC des donneurs ECD induit une apoptose.*

Figure 17. *La surexpression d'ICAM-1 par une lignée endothéliale après stimulation par les LC des donneurs ECD semble être atténuée par la protéine Klotho.*

Valorisation de ce travail

Ce travail s'intègre dans une dynamique d'équipe et a été valorisé par :

- Une bourse par l'*EAU Section of Transplantation Urology* (ESTU).
- Une communication orale au 19^{ème} *Congress of the European Society for Organ Transplantation* (ESOT) en septembre 2019.
- Une communication orale à la Société Felix Guyon Sud-Est (SFGSE) en octobre 2019.
- Deux communications orales au 113^{ème} Congrès d'Urologie Française en novembre 2019.
- Une communication orale à l'*International Federation for Adipose Therapeutics and Science* (IFATS) en décembre 2019.
- Une communication au 35^{ème} *Annual European Association of Urology (EAU) Congress* en 2020.
- Un article soumis dans la Revue *Kidney International*.
- Un *abstract* accepté dans la revue *Frontiers in Immunology*.

Références bibliographiques

1. Bouchet A. [The pioneers of vascular surgery in Lyon: M. Jaboulay, A. Carrel, E. Villard et R. Leriche]. *Hist Sci Med*. 1994;28(3):223-38.
2. Druml W. The beginning of organ transplantation: Emerich Ullmann (1861-1937). *Wien Klin Wochenschr*. 28 févr 2002;114(4):128-37.
3. Matevossian E, Kern H, Hüser N, Doll D, Snopok Y, Nährig J, et al. Surgeon Yurii Voronoy (1895-1961) - a pioneer in the history of clinical transplantation: in memoriam at the 75th anniversary of the first human kidney transplantation. *Transpl Int*. déc 2009;22(12):1132-9.
4. Transplantation rénale : l'apport créateur de René Küss et de Jean Hamburger | La Revue du Praticien [Internet]. [cité 6 sept 2019]. Disponible sur: <http://www.larevuedupraticien.fr/histoire-de-la-medecine/transplantation-renale-l%E2%80%99apport-createur-de-rene-kuess-et-de-jean-hamburger>
5. Schultheiss D, Jardin A. René Küss (1913-2006)-a transplant pioneer in Paris. *Transplantation proceedings*. 2013;45(3):1220-3.
6. Mollaret P, Goulon M. [The depressed coma (preliminary memoir)]. *Rev Neurol (Paris)*. juill 1959;101:3-15.
7. Parsons FM, Fox M, Anderson CK, Markland C, Clark PB, Raper FP. Cyclophosphamide in renal homotransplantation. *Br J Urol*. déc 1966;38(6):673-6.
8. Starzl TE, Marchioro TL, Porter KA, Iwasaki Y, Cerilli GJ. The use of heterologous antilymphoid agents in canine renal and liver homotransplantation and in human renal homotransplantation. *Surg Gynecol Obstet*. févr 1967;124(2):301-8.
9. Levey AS, Coresh J. Chronic kidney disease. *Lancet*. 14 janv 2012;379(9811):165-80.
10. GBD 2017 Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 10 nov 2018;392(10159):1736-88.
11. pubmeddev, al OA et. Epidemiology, contributors to, and clinical trials of mortality risk in chronic kidney failure. - PubMed - NCBI [Internet]. [cité 6 sept 2019]. Disponible sur: <https://www-ncbi-nlm-nih-gov.gate2.inist.fr/pubmed/24856028>
12. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Agodoa LY, et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med*. 2 déc 1999;341(23):1725-30.
13. Tonelli M, Wiebe N, Knoll G, Bello A, Browne S, Jadhav D, et al. Systematic review: kidney transplantation compared with dialysis in clinically relevant outcomes. *Am J Transplant*. oct 2011;11(10):2093-109.

14. Thiruchelvam PTR, Willicombe M, Hakim N, Taube D, Papalois V. Renal transplantation. *BMJ*. 14 nov 2011;343:d7300.
15. Hariharan S, McBride MA, Bennett LE, Cohen EP. Risk factors for renal allograft survival from older cadaver donors. *Transplantation*. 27 déc 1997;64(12):1748-54.
16. Formica RN. A critical assessment on kidney allocation systems. *Transplant Rev (Orlando)*. 2017;31(1):61-7.
17. Yarlagadda SG, Coca SG, Garg AX, Doshi M, Poggio E, Marcus RJ, et al. Marked variation in the definition and diagnosis of delayed graft function: a systematic review. *Nephrol Dial Transplant*. sept 2008;23(9):2995-3003.
18. Humar A, Ramcharan T, Kandaswamy R, Gillingham K, Payne WD, Matas AJ. Risk factors for slow graft function after kidney transplants: a multivariate analysis. *Clin Transplant*. déc 2002;16(6):425-9.
19. Florman S, Becker T, Bresnahan B, Chevaile-Ramos A, Carvalho D, Grannas G, et al. Efficacy and Safety Outcomes of Extended Criteria Donor Kidneys by Subtype: Subgroup Analysis of BENEFIT-EXT at 7 Years After Transplant. *Am J Transplant*. 2017;17(1):180-90.
20. Neri F, Furian L, Cavallin F, Ravaioli M, Silvestre C, Donato P, et al. How does age affect the outcome of kidney transplantation in elderly recipients? *Clin Transplant*. oct 2017;31(10).
21. Karim A, Farrugia D, Cheshire J, Mahboob S, Begaj I, Ray D, et al. Recipient age and risk for mortality after kidney transplantation in England. *Transplantation*. 27 avr 2014;97(8):832-8.
22. Jurčić V, Ferluga D. Vascular expression of adhesion molecules in acute and chronic rejection of kidney allografts. *Adv Clin Path*. janv 2003;7(1):33-7.
23. Joosten SA, van Kooten C, Sijpkens YWJ, de Fijter JW, Paul LC. The pathobiology of chronic allograft nephropathy: immune-mediated damage and accelerated aging. *Kidney Int*. mai 2004;65(5):1556-9.
24. Lasry A, Ben-Neriah Y. Senescence-associated inflammatory responses: aging and cancer perspectives. *Trends Immunol*. avr 2015;36(4):217-28.
25. Park H, Kim C-H, Jeong J-H, Park M, Kim KS. GDF15 contributes to radiation-induced senescence through the ROS-mediated p16 pathway in human endothelial cells. *Oncotarget*. 1 mars 2016;7(9):9634-44.
26. Winnik S, Auwerx J, Sinclair DA, Matter CM. Protective effects of sirtuins in cardiovascular diseases: from bench to bedside. *Eur Heart J*. 21 déc 2015;36(48):3404-12.
27. Buendía P, Carracedo J, Soriano S, Madueño JA, Ortiz A, Martín-Malo A, et al. Klotho Prevents NFκB Translocation and Protects Endothelial Cell From Senescence Induced by Uremia. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. oct 2015;70(10):1198-209.

28. Floerchinger B, Yuan X, Jurisch A, Timsit M-O, Ge X, Lee Y-L, et al. Inflammatory immune responses in a reproducible mouse brain death model. *Transpl Immunol.* août 2012;27(1):25-9.
29. Belzer FO, Southard JH. Principles of solid-organ preservation by cold storage. *Transplantation.* avr 1988;45(4):673-6.
30. Kosieradzki M, Pratschke J, Kupiec-Węgliński J, Rowiński W. Ischemia/Reperfusion injury, its mechanisms, and prevention. *J Transplant.* 2012;2012:610370.
31. Gracia-Sancho J, Villarreal G, Zhang Y, Yu JX, Liu Y, Tullius SG, et al. Flow cessation triggers endothelial dysfunction during organ cold storage conditions: strategies for pharmacologic intervention. *Transplantation.* 27 juill 2010;90(2):142-9.
32. Chen GY, Nuñez G. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. *Nat Rev Immunol.* déc 2010;10(12):826-37.
33. Ali S, Sheerin NS. Biomarkers of acute injury: predicting the long-term outcome after transplantation. *Kidney Int.* déc 2013;84(6):1072-4.
34. Legallois C (1770-1814) A du texte. Expériences sur le principe de la vie, notamment sur celui des mouvemens du coeur, et sur le siège de ce principe ; suivies du Rapport fait à l'Institut sur celles relatives aux mouvemens du coeur, par M. Le Gallois,... [Internet]. 1812 [cité 13 sept 2019]. Disponible sur: <https://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k1511249w>
35. Carrel A, Lindbergh CA. THE CULTURE OF WHOLE ORGANS. *Science.* 21 juin 1935;81(2112):621-3.
36. Belzer FO, Hoffman RM, Southard JH. Kidney preservation. *Surg Clin North Am.* avr 1978;58(2):261-71.
37. Moers C, Smits JM, Maathuis M-HJ, Treckmann J, van Gelder F, Napieralski BP, et al. Machine perfusion or cold storage in deceased-donor kidney transplantation. *N Engl J Med.* 1 janv 2009;360(1):7-19.
38. Treckmann J, Moers C, Smits JM, Gallinat A, Maathuis M-HJ, van Kasterop-Kutz M, et al. Machine perfusion versus cold storage for preservation of kidneys from expanded criteria donors after brain death. *Transpl Int.* juin 2011;24(6):548-54.
39. Barrou B. Machines de perfusion rénale : mécanismes d'action, indications et mise en œuvre. //www.em-premium.com/data/traites/nep/18-60802/ [Internet]. 13 févr 2014 [cité 13 sept 2019];
40. Kataria A, Magoon S, Makkar B, Gundroo A. Machine perfusion in kidney transplantation. *Curr Opin Organ Transplant.* août 2019;24(4):378-84.
41. Tingle SJ, Figueiredo RS, Moir JA, Goodfellow M, Talbot D, Wilson CH. Machine perfusion preservation versus static cold storage for deceased donor kidney transplantation. *Cochrane Database Syst Rev.* 15 2019;3:CD011671.

42. Paul P, Picard C, Sampol E, Lyonnet L, Di Cristofaro J, Paul-Delvaux L, et al. Genetic and Functional Profiling of CD16-Dependent Natural Killer Activation Identifies Patients at Higher Risk of Cardiac Allograft Vasculopathy. *Circulation*. 6 mars 2018;137(10):1049-59.
43. Günther J, Resch T, Hackl H, Sattler A, Ebner S, Ritschl PV, et al. Identification of the activating cytotoxicity receptor NKG2D as a senescence marker in zero-hour kidney biopsies is indicative for clinical outcome. *Kidney International*. 1 juin 2017;91(6):1447-63.
44. Naesens M. Zero-Time Renal Transplant Biopsies: A Comprehensive Review. *Transplantation*. juill 2016;100(7):1425-39.
45. Duman S, Ozbek S, Sen S, Tamsel S, Töz H, Aşçi G, et al. Is « zero-hour » biopsy of the transplanted kidney risky? *Transplant Proc*. févr 2004;36(1):137-8.
46. Liu B-X, Sun W, Kong X-Q. Perirenal Fat: A Unique Fat Pad and Potential Target for Cardiovascular Disease. *Angiology*. août 2019;70(7):584-93.
47. Kim J-H, Han E-H, Jin Z-W, Lee H-K, Fujimiya M, Murakami G, et al. Fetal topographical anatomy of the upper abdominal lymphatics: its specific features in comparison with other abdominopelvic regions. *Anat Rec (Hoboken)*. janv 2012;295(1):91-104.
48. Hall JE, do Carmo JM, da Silva AA, Wang Z, Hall ME. Obesity-induced hypertension: interaction of neurohumoral and renal mechanisms. *Circ Res*. 13 mars 2015;116(6):991-1006.
49. D'Marco L, Salazar J, Cortez M, Salazar M, Wettel M, Lima-Martínez M, et al. Perirenal fat thickness is associated with metabolic risk factors in patients with chronic kidney disease. *Kidney Res Clin Pract*. 30 juill 2019;
50. Ma S, Zhu X-Y, Eirin A, Woollard JR, Jordan KL, Tang H, et al. Perirenal Fat Promotes Renal Arterial Endothelial Dysfunction in Obese Swine through Tumor Necrosis Factor- α . *J Urol*. avr 2016;195(4 Pt 1):1152-9.
51. Wronska A, Kmiec Z. Structural and biochemical characteristics of various white adipose tissue depots. *Acta Physiol (Oxf)*. juin 2012;205(2):194-208.
52. Bora P, Majumdar AS. Adipose tissue-derived stromal vascular fraction in regenerative medicine: a brief review on biology and translation. *Stem Cell Res Ther*. 15 2017;8(1):145.
53. Granel B, Daumas A, Jouve E, Harlé J-R, Nguyen P-S, Chabannon C, et al. Safety, tolerability and potential efficacy of injection of autologous adipose-derived stromal vascular fraction in the fingers of patients with systemic sclerosis: an open-label phase I trial. *Ann Rheum Dis*. déc 2015;74(12):2175-82.
54. Rodriguez J, Pratta A-S, Abbassi N, Fabre H, Rodriguez F, Debard C, et al. Evaluation of Three Devices for the Isolation of the Stromal Vascular Fraction from Adipose Tissue and for ASC Culture: A Comparative Study. *Stem Cells Int*. 2017;2017:9289213.

55. Mitchell JB, McIntosh K, Zvonic S, Garrett S, Floyd ZE, Kloster A, et al. Immunophenotype of human adipose-derived cells: temporal changes in stromal-associated and stem cell-associated markers. *Stem Cells*. févr 2006;24(2):376-85.
56. Bourin P, Bunnell BA, Casteilla L, Dominici M, Katz AJ, March KL, et al. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). *Cytotherapy*. juin 2013;15(6):641-8.
57. Yoder MC, Mead LE, Prater D, Krier TR, Mroueh KN, Li F, et al. Redefining endothelial progenitor cells via clonal analysis and hematopoietic stem/progenitor cell principals. *Blood*. 1 mars 2007;109(5):1801-9.
58. Lin R-Z, Moreno-Luna R, Muñoz-Hernandez R, Li D, Jaminet S-CS, Greene AK, et al. Human white adipose tissue vasculature contains endothelial colony-forming cells with robust in vivo vasculogenic potential. *Angiogenesis*. oct 2013;16(4):735-44.
59. Szöke K, Reinisch A, Østrup E, Reinholt FP, Brinchmann JE. Autologous cell sources in therapeutic vasculogenesis: In vitro and in vivo comparison of endothelial colony-forming cells from peripheral blood and endothelial cells isolated from adipose tissue. *Cytotherapy*. févr 2016;18(2):242-52.
60. Paschalaki KE, Starke RD, Hu Y, Mercado N, Margariti A, Gorgoulis VG, et al. Dysfunction of endothelial progenitor cells from smokers and chronic obstructive pulmonary disease patients due to increased DNA damage and senescence. *Stem Cells*. déc 2013;31(12):2813-26.
61. Dykstra JA, Facile T, Patrick RJ, Francis KR, Milanovich S, Weimer JM, et al. Concise Review: Fat and Furious: Harnessing the Full Potential of Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction. *Stem Cells Transl Med*. avr 2017;6(4):1096-108.
62. Haney NM, Gabrielson A, Kohn TP, Hellstrom WJG. The Use of Stromal Vascular Fraction in the Treatment of Male Sexual Dysfunction: A Review of Preclinical and Clinical Studies. *Sex Med Rev*. 27 juin 2018;
63. Bateman ME, Strong AL, Gimble JM, Bunnell BA. Concise Review: Using Fat to Fight Disease: A Systematic Review of Nonhomologous Adipose-Derived Stromal/Stem Cell Therapies. *Stem Cells*. sept 2018;36(9):1311-28.
64. Philandrianos C, Serrero M, Grimaud F, Magalon J, Visée C, Velier M, et al. First clinical case report of local microinjection of autologous fat and adipose-derived stromal vascular fraction for perianal fistula in Crohn's disease. *Stem Cell Res Ther*. 10 2018;9(1):4.
65. Lee C, Jang MJ, Kim BH, Park JY, You D, Jeong IG, et al. Recovery of renal function after administration of adipose-tissue-derived stromal vascular fraction in

- rat model of acute kidney injury induced by ischemia/reperfusion injury. *Cell Tissue Res.* 2017;368(3):603-13.
66. Zhou L, Song Q, Shen J, Xu L, Xu Z, Wu R, et al. Comparison of human adipose stromal vascular fraction and adipose-derived mesenchymal stem cells for the attenuation of acute renal ischemia/reperfusion injury. *Sci Rep.* 09 2017;7:44058.
 67. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 5 mai 2009;150(9):604-12.
 68. Lee S-J, Ryu M-O, Seo M-S, Park S-B, Ahn J-O, Han S-M, et al. Mesenchymal Stem Cells Contribute to Improvement of Renal Function in a Canine Kidney Injury Model. *In Vivo.* déc 2017;31(6):1115-24.
 69. Sierra-Parraga JM, Eijken M, Hunter J, Moers C, Leuvenink H, Møller B, et al. Mesenchymal Stromal Cells as Anti-Inflammatory and Regenerative Mediators for Donor Kidneys During Normothermic Machine Perfusion. *Stem Cells Dev.* 15 2017;26(16):1162-70.
 70. Yazdani S, Callemeyn J, Gazut S, Lerut E, de Loor H, Wevers M, et al. Natural killer cell infiltration is discriminative for antibody-mediated rejection and predicts outcome after kidney transplantation. *Kidney Int.* 2 nov 2018;
 71. Halloran PF, Venner JM, Madill-Thomsen KS, Einecke G, Parkes MD, Hidalgo LG, et al. Review: The transcripts associated with organ allograft rejection. *Am J Transplant.* avr 2018;18(4):785-95.
 72. Legris T, Picard C, Todorova D, Lyonnet L, Laporte C, Dumoulin C, et al. Antibody-Dependent NK Cell Activation Is Associated with Late Kidney Allograft Dysfunction and the Complement-Independent Alloreactive Potential of Donor-Specific Antibodies. *Front Immunol.* 2016;7:288.
 73. Günther J, Resch T, Hackl H, Sattler A, Ebner S, Ritschl PV, et al. Identification of the activating cytotoxicity receptor NKG2D as a senescence marker in zero-hour kidney biopsies is indicative for clinical outcome. *Kidney Int.* 2017;91(6):1447-63.
 74. Huynh DTN, Heo K-S. Therapeutic targets for endothelial dysfunction in vascular diseases. *Arch Pharm Res.* 16 août 2019;
 75. Vestweber D. Adhesion and signaling molecules controlling the transmigration of leukocytes through endothelium. *Immunol Rev.* août 2007;218:178-96.
 76. Das S, Zhang E, Senapati P, Amaram V, Reddy MA, Stapleton K, et al. A Novel Angiotensin II-Induced Long Noncoding RNA Giver Regulates Oxidative Stress, Inflammation, and Proliferation in Vascular Smooth Muscle Cells. *Circ Res.* 7 déc 2018;123(12):1298-312.
 77. Sharfuddin AA, Molitoris BA. Pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *Nat Rev Nephrol.* avr 2011;7(4):189-200.

78. Cardinal H, Lamarche F, Grondin S, Marsolais P, Lagacé A-M, Duca A, et al. Organ donor management and delayed graft function in kidney transplant recipients: A multicenter retrospective cohort study. *Am J Transplant*. 25 sept 2018;
79. Barnes TC, Anderson ME, Moots RJ. The many faces of interleukin-6: the role of IL-6 in inflammation, vasculopathy, and fibrosis in systemic sclerosis. *Int J Rheumatol*. 2011;2011:721608.
80. Jordan SC, Choi J, Kim I, Wu G, Toyoda M, Shin B, et al. Interleukin-6, A Cytokine Critical to Mediation of Inflammation, Autoimmunity and Allograft Rejection: Therapeutic Implications of IL-6 Receptor Blockade. *Transplantation*. janv 2017;101(1):32-44.
81. Jones SA, Fraser DJ, Fielding CA, Jones GW. Interleukin-6 in renal disease and therapy. *Nephrol Dial Transplant*. avr 2015;30(4):564-74.
82. Steyers CM, Miller FJ. Endothelial dysfunction in chronic inflammatory diseases. *Int J Mol Sci*. 25 juin 2014;15(7):11324-49.
83. Schumacher C, Clark-Lewis I, Baggiolini M, Moser B. High- and low-affinity binding of GRO alpha and neutrophil-activating peptide 2 to interleukin 8 receptors on human neutrophils. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1 nov 1992;89(21):10542-6.
84. Miyake M, Goodison S, Urquidi V, Gomes Giacoia E, Rosser CJ. Expression of CXCL1 in human endothelial cells induces angiogenesis through the CXCR2 receptor and the ERK1/2 and EGF pathways. *Lab Invest*. juill 2013;93(7):768-78.
85. Miyake M, Furuya H, Onishi S, Hokutan K, Anai S, Chan O, et al. Monoclonal Antibody against CXCL1 (HL2401) as a Novel Agent in Suppressing IL6 Expression and Tumoral Growth. *Theranostics*. 2019;9(3):853-67.
86. Hui H, Zhai Y, Ao L, Cleveland JC, Liu H, Fullerton DA, et al. Klotho suppresses the inflammatory responses and ameliorates cardiac dysfunction in aging endotoxemic mice. *Oncotarget*. 28 févr 2017;8(9):15663-76.
87. Mazzotta C, Manetti M, Rosa I, Romano E, Blagojevic J, Bellando-Randone S, et al. Proangiogenic effects of soluble α -Klotho on systemic sclerosis dermal microvascular endothelial cells. *Arthritis Res Ther* [Internet]. 2017 [cité 4 juin 2019];19. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5301388/>
88. Weissenbacher A, Hunter J. Normothermic machine perfusion of the kidney. *Curr Opin Organ Transplant*. déc 2017;22(6):571-6.
89. Sierra Parraga JM, Rozenberg K, Eijken M, Leuvenink HG, Hunter J, Merino A, et al. Effects of Normothermic Machine Perfusion Conditions on Mesenchymal Stromal Cells. *Front Immunol*. 2019;10:765.

Annexes

D é l é g u é à l a P r o t e c t i o n d e s D o n n é e s d e l ' A p H m



Assistance Publique
Hôpitaux de Marseille

Professeur Xavier THIRION
Délégué à la Protection des Données
Tél : 04 91 38 19 28
dpo@ap-hm.fr

Philippe TOURRON
Délégué à la Protection des Données adjoint
RSSI
Tél : 04 91 38 16 20
rssti@ap-hm.fr

Le 24 mai 2019

Madame, Monsieur,

La fiche de déclaration du Traitement :

«Le tissu adipeux périrénal : modèle d'étude de la vasculocompétence du transplant rénal prélevé chez le donneur âgé à haut risque cardiovasculaire»

dont vous avez la responsabilité de mise en œuvre, est inscrite au registre RGPD/AP-HM sous le numéro :

2019-70

Vous pouvez considérer l'utilisation de ce traitement comme en règle de déclaration vis-à-vis du Règlement Général sur la Protection des Données. Toute modification du traitement dans ses modalités, aspects techniques ou finalité rendrait cette déclaration obsolète et doit être signalée et faire l'objet d'une nouvelle déclaration avant toute mise en œuvre. Le manquement à cette obligation mettrait en cause votre responsabilité à titre personnel.

Nous sommes à votre disposition pour tout renseignement complémentaire et vous adressons nos sincères salutations.

Pr Xavier Thirion
Délégué à la Protection
des Données de l'ApHm

Philippe Tourron
Délégué à la Protection
des Données adjoint
RSSI

Annexe I. Enregistrement de l'étude au registre RGPD/AP-HM

COPIE

Dossier suivi par :

Direction juridique
Cécile LAUVIN
Tel. : 01 55 93 64 13
Fax : 01 55 93 64 51
cecile.lauvin@biomedecine.fr

Direction médicale et scientifique
Nicolas CHATAURET
Pôle recherche / projets européens
Tel. : 01 55 93 65 26
Fax : 01 55 93 65 36
nicolas.chatauret@biomedecine.fr

Réf. ADB/SLF-NCH

La directrice générale

à

Madame la Directrice
Hôpital de la Conception – Hôpitaux Sud
Assistance Publique Hôpitaux de Marseille
146 boulevard Baille
CS40002
13385 MARSEILLE cedex 05

A l'attention de Madame Catherine MICHELANCELI

Saint-Denis, le - 7 NOV. 2018

ACCUSE DE RECEPTION
Déclaration de protocole de prélèvements à fins scientifiques
(articles L. 1232-3, R. 1232-15 du code de la santé publique)

Ce protocole de recherche a été enregistré sous le n° : **PFS18-013**
Nom du responsable : **Romain BOISSIER**
Site concerné par la demande : **Hôpital de la Conception, AP-HM**

Titre du projet : « **Le tissu adipeux périnéal : modèle d'étude de la vasculocompétence du transplant rénal** »


Ce dossier est en la forme recevable et complet.

En application des dispositions du décret n°2007-1220 du 10 août 2007 relatif au prélèvement, à la conservation et à la préparation à des fins scientifiques d'éléments du corps humain, je vous précise que la mise en œuvre du protocole ne peut débuter qu'à l'expiration d'un délai de deux mois suivant la délivrance du présent accusé de réception, sauf décision d'interdiction opposée par le ministre chargé de la recherche après que l'établissement ou l'organisme demandeur ait été mis en mesure de présenter ses observations dans un délai imparti (article R. 1232-18 du code de la santé publique).

Le ministre chargé de la recherche peut en effet suspendre ou interdire la mise en œuvre d'un protocole de prélèvement lorsque la nécessité du prélèvement ou la pertinence de la recherche n'est pas établie, ou lorsque le respect des principes éthiques n'est pas assuré (articles L. 1232-3 et L. 1241-6 du code de la santé publique).

Mes services restent à votre disposition pour toute demande d'information complémentaire.

Pour la directrice générale et par délégation,



Anne DEBEAUMONT
Directrice juridique

Copie : - Romain BOISSIER, Service d'urologie et de transplantation rénale, CHU Conception

SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans **aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions**. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas **usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité**.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai **jamais leur confiance** et **n'exploiterai pas le pouvoir hérité** des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

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

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

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque.

Résumé

Contexte : L'insuffisance rénale chronique terminale est une pathologie grave dont le traitement préférentiel est la transplantation rénale. La pénurie de transplant nécessite le recours à des donneurs âgés à risque cardiovasculaire, dits ECD (pour Extended Criteria Donor). Comprendre les mécanismes altérant la qualité de ces transplants et notamment ceux responsables d'une dysfonction endothéliale est un défi pour optimiser leur qualité. Dans ce contexte, le tissu adipeux péri-rénal (TAP), par son intime proximité avec le rein, et sa fraction vasculaire stromale (FVS-TAP) riche en *endothelial colony forming cells (ECFC)* apparaît comme un modèle non invasif pour l'étude de ces mécanismes.

Objectifs : Notre objectif était de rechercher si la FVS et sa composante endothéliale pouvaient présenter un profil cellulaire et moléculaire représentatif de l'état inflammatoire et des altérations endothéliales associées au contexte ECD.

Matériels et méthodes : Nous avons conduit un recueil prospectif du TAP de 18 donneurs cadavériques (ABM N°PFS 18-013) et réalisé une extraction enzymatique de la FVS à partir de la graisse péri-rénale. Une analyse phénotypique de la composition cellulaire, de l'expression de transcrits inflammatoires en qPCR et du potentiel angiogénique de la FVS-TAP a été conduite. Parallèlement, les liquides de conservation (LC) des organes, considérés comme représentatifs de l'environnement paracrine du donneur ECD, ont été congelés pour permettre le dosage ELISA de l'IL6 soluble. Nous avons dans un second temps recherché si le contexte ECD, porté par ces LC, pouvait induire une activation inflammatoire de l'endothélium, objectivable sur des *ECFC* issues du TAP.

Résultats : La FVS-TAP des donneurs ECD différait de celle des donneurs non ECD avec notamment une plus grande infiltration par les cellules NK. La FVS-TAP ECD contenait moins de cellules stromales, avait un potentiel angiogénique diminué et un profil inflammatoire augmenté. Les taux d'IL-6 soluble dosés dans les LC étaient inversement corrélés à une moindre fonction rénale à 3 mois du receveur. L'exposition des *ECFC* au LC des donneurs ECD a induit une surexpression membranaire d'ICAM-1, des transcrits *CXCL1* ainsi qu'une apoptose cellulaire accrue. L'ajout de Klotho dans le liquide de conservation diminuait l'activation endothéliale induite par les LC ECD.

Conclusion : Nous avons identifié dans la FVS-TAP un profil pro-inflammatoire spécifique à l'environnement ECD, associant un infiltrat NK, une diminution du contingent régénératif stromal, une diminution du potentiel angiogénique et une augmentation des transcrits impliqués dans les voies de signalisation de l'inflammation. Les facteurs paracrines contenus dans les LC ECD semblent refléter cet état inflammatoire. Ce travail exploratoire pourrait permettre d'identifier des cibles moléculaires et cellulaires pour optimiser la conservation et les résultats fonctionnels des transplants rénaux issus de donneurs marginaux.

Mots-clés : insuffisance rénale chronique terminale, tissu adipeux péri-rénal, transplantation rénale, fraction vasculaire stromale, donneurs ECD.