

UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG
2020

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Désimmunisation HLA non active en transplantation rénale chez les
patients hyper-immunisés à Lille**

Présentée et soutenue publiquement le 12 octobre à 18h
au Pôle Formation salle numéro 2
par **Béatrice PORTIER - MASSON**

Président :

Monsieur le Professeur *Marc HAZZAN*

Assesseurs :

Madame le Professeur *Myriam LABALETTE*

Monsieur le Professeur *François-Xavier GLOWACKI*

Madame le Docteur *Isabelle TOP*

Directeur de thèse :

Madame le Docteur *Marine VAN TRIEMPONT*

Avertissement

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

1	Lexique	6
2	Résumé.....	7
3	Introduction.....	8
3.1	Système HLA	8
3.1.1	<i>Généralités</i>	<i>8</i>
3.1.2	<i>Caractérisation HLA et définitions</i>	<i>10</i>
3.1.3	<i>Suivi immunologique des patients sur liste ou greffés rénaux.....</i>	<i>13</i>
3.1.4	<i>Les anticorps anti-HLA – DSA : pathogénicité.....</i>	<i>15</i>
3.2	Population Hyperimmunisée en transplantation rénale	16
3.2.1	<i>Caractéristiques</i>	<i>16</i>
3.2.2	<i>Accès à la greffe.....</i>	<i>17</i>
3.2.3	<i>Solutions d'accès à la greffe.....</i>	<i>17</i>
3.2.4	<i>Survie et pronostic de greffe.....</i>	<i>22</i>
3.3	La désimmunisation non-active (DNA)	24
3.3.1	<i>Principe</i>	<i>24</i>
3.3.2	<i>Rationnel</i>	<i>24</i>
3.3.3	<i>A Lille – Objectifs de thèse.....</i>	<i>26</i>
4	Matériels et Méthodes.....	28
4.1	Type d'étude	28
4.2	Population étudiée.....	28
4.3	Protocole de désimmunisation non-active et déroulement de la greffe	28
4.4	Données recueillies	30
4.5	Analyses statistiques	32
5	Résultats.....	34
5.1	Population	34
5.2	Données initiales des patients sur liste de DNA.....	35
5.3	Suivi immunologique des patients sur liste de DNA.....	37
5.3.1	<i>Délai entre l'inscription sur liste de greffe/ la DNA/ et la fin de DNA.....</i>	<i>37</i>
5.3.2	<i>Évolution du nombre et sommes des anticorps anti-HLA et DSA.....</i>	<i>37</i>
5.4	Données des patients selon le statut de greffe et facteurs d'accessibilité à la greffe ...	38
5.4.1	<i>Données des patients greffés et données de la greffe</i>	<i>38</i>
5.4.2	<i>Données des patients non greffés.....</i>	<i>39</i>
5.4.3	<i>Facteurs d'accessibilité à la greffe</i>	<i>40</i>
5.5	Suivi des patients greffés grâce au protocole de DNA.....	41
5.5.1	<i>Survie patient et causes de décès.....</i>	<i>41</i>

5.5.2	<i>Survie greffon</i>	41
5.5.3	<i>Données sur le rejet et facteurs de risques de rejets</i>	42
5.5.4	<i>Créatininémie et DFG des patients greffés</i>	46
6	Discussion	49
6.1	Principaux résultats	49
6.1.1	<i>Caractéristiques de la population</i>	49
6.1.2	<i>Efficacité de la DNA</i>	50
6.1.3	<i>Accès à la greffe</i>	51
6.1.4	<i>Survie patient et survie greffon</i>	52
6.1.5	<i>Épisodes de rejet</i>	53
6.1.6	<i>Fonction rénale</i>	55
6.2	Forces de notre étude sur la DNA	56
6.3	Limites de notre étude	57
6.4	Alternatives/ Perspectives	58
7	Conclusion	62
8	Références	63

1 Lexique

AA : Acides Aminés

BPAR : Biopsy Proven Acute Rejection

CD : Cluster de Différenciation

CM : Cross-Match

CPA : Cellules Présentatrices

d'Antigènes

cPRA : calculated Panel Reactive

Antibody

DNA : Désimmunisation Non-Active

DSA : Donor Specific Antibody

DSAdn : De novo Donor Specific

Antibody

DFG : Débit de Filtration Glomérulaire

EP : Echanges Plasmatiques

FAG : score de Facilité d'Accès à la

Greffe

HAP : Hyperimmunisés Antigènes Permis

HI : Hyperimmunisé

HLA : Human Leukocyte Antigen

Ig : Immunoglobulines

IVIg : Immunoglobulines Intra-veineuse

LCT : Lymphotoxicité

LB : Lymphocytes B

LT : Lymphocytes T

MFI : Mean Fluorescence Intensity

PCR : Polymerase Chain Reaction

PRA : Panel Reactive Antibody

RAC : Rejet Aigu Cellulaire

RAH : Rejet Aigu Humoral

RFG : Retard de reprise de Fonction du

Greffon

SA : Single Antigen (identification par le

Luminex)

TGI : Taux de Greffon Incompatible

2 Résumé

Introduction : Des évènements tels que les allogreffes, grossesses et/ou transfusions sanguines entraînent une immunisation contre le système HLA chez les patients en attente d'une transplantation rénale. Or l'immunisation anti-HLA constitue une barrière majeure d'accès à la greffe. Pour y pallier, cette population hyperimmunisée (HI) bénéficie de protocoles de priorités nationales, voire de protocoles de désimmunisation active. De façon plus récente, la Désimmunisation non-active (DNA) consiste à suivre dans le temps et de façon rapprochée les anticorps anti-HLA des patients sur liste de greffe afin de soustraire les spécificités interdites lorsqu'elles passent en deçà de 3000 de MFI. L'objectif de ce travail a été de décrire les caractéristiques démographiques et immunologiques des patients bénéficiant de la DNA, l'efficacité de cette technique sur l'accès à la greffe et le pronostic de leurs greffes.

Méthodes : Il s'agit d'une étude observationnelle, rétrospective, monocentrique au CHRU de Lille, concernant tous les patients inclus en protocole de DNA de novembre 2015 au 31 décembre 2019.

Résultats : Cinquante-quatre patients HI ont été inclus en DNA dont 35 patients qui ont été greffés soit 64,8% de la cohorte. La probabilité de greffe à 1 an est de 54,4% IC95 [22,4-86,4]. Durant le suivi médian de 2 ans (Q1-Q3 : 1,15-2,35) des patients greffés, nous avons observé 3 décès. La survie greffon censurée pour le décès est de 82,2% IC95 [66,5-98] à 1 an. Onze rejets ont été observés dont 10 rejets aigus humoraux. Le DFG calculé médian à 1 an était d'environ 45mL/min/1,73m² (Q1-Q3 : 31-64). Aucun facteur d'accessibilité à la greffe ou de rejet après DNA n'a pu être mis en évidence.

Conclusion : La DNA est un moyen qui semble efficace pour faciliter l'accès à la greffe aux patients HI. Le pronostic de greffe paraît semblable aux protocoles de désimmunisation active. Le caractère non invasif et l'absence d'effets secondaires de ce protocole de DNA en sont les atouts majeurs. Des études complémentaires sur des plus grandes cohortes seraient nécessaires pour mieux évaluer le pronostic de greffe et les facteurs d'accès à la greffe parmi les patients bénéficiant de protocole de DNA.

La greffe rénale reste un traitement de choix de l'insuffisance rénale chronique terminale permettant une meilleure qualité de vie (1,2) et survie des patients (3), comparé à la dialyse.

Outre la compatibilité immunologique du receveur avec son donneur, et notamment vis-à-vis du système *Human Leukocyte Antigen* (HLA,) la présence d'anticorps anti HLA chez le potentiel receveur est un facteur limitant d'accessibilité à la greffe rénale. Cette immunisation s'acquiert suite à des allogreffes, des grossesses ou des transfusions antérieures, principalement (4).

Du fait de l'amélioration de l'espérance de vie, de l'augmentation des greffes d'organes, et de l'augmentation de la sensibilité des techniques de détection des anticorps anti-HLA, le nombre de patients hyperimmunisés (HI) sur liste d'attente de greffe rénale augmente (5).

Des solutions pour faciliter l'obtention d'une greffe sont nécessaires pour ces patients. La désimmunisation non-active (DNA) en fait partie et nécessite d'être évaluée car peu de données existent sur ce sujet à l'heure actuelle.

3 Introduction

3.1 Système HLA

3.1.1 Généralités

Les molécules HLA sont présentes à la surface des cellules avec pour but de présenter les peptides endogènes ou exogènes aux lymphocytes T (LT). Il existe 2 classes de molécules HLA : la classe I et la classe II.

De façon schématique, les molécules HLA de classe I sont composées d'une chaîne α couplée à une protéine constante, la β 2-microglobuline. La chaîne α est codée par 3 *locus* géniques différents appelés A, B et Cw, aboutissant aux molécules HLA A, B et C. Les

molécules HLA de classe I sont présentes sur toutes les cellules nucléées de l'organisme ainsi que les plaquettes. Elles présentent des peptides endogènes, cytosoliques. Le complexe CMH-I/peptide est reconnu par le TCR des LT CD8+ provoquant une action cytotoxique.

Les molécules HLA de classe II sont composées d'une chaîne α couplée à une chaîne β . Ces 2 chaînes sont codées par 3 paires de *locus* géniques différents appelés DR A/B, DQ A/B et DP A/B, aboutissant aux molécules HLA DR, DQ, et DP. Les molécules HLA de classe II sont présentes sur les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) : les Lymphocytes B (LB), les cellules dendritiques, les macrophages, les cellules épithéliales corticales thymiques et les LT activés. Elles présentent des peptides exogènes provenant du système vésiculaire (endosomes, lysosomes, phagosomes). Le complexe CMH-II/peptide est reconnu par le TCR des LT CD4+ provoquant leur différenciation en différents sous-types de LT.

Les gènes HLA sont présents sur le chromosome 6. Ces gènes ont la particularité d'être polygéniques (A, B, Cw, DR, DQ, et DP) et polymorphiques, c'est-à-dire qu'il existe plusieurs variants ou allèles pour chaque gène. Ainsi chaque personne possède un panel quasi-unique, de molécules HLA, permettant de présenter une multitude de peptides. L'expression des gènes HLA est codominante, c'est-à-dire que les 2 allèles s'expriment de façon égale en même temps dans chaque cellule. Leur transmission se fait en bloc. A noter qu'il existe un déséquilibre de liaison, expliquant l'association de certains allèles HLA entre les individus. Par ailleurs, on sait que certaines molécules HLA partagent des séquences d'acides aminés (AA), successifs ou non. Ces séquences peuvent être reconnues par des anticorps et sont appelées épitopes. De façon plus précise, les *eplets*

sont des séquences d'AA d'un rayon de 3-3,5 Ångstroms, le plus souvent constituées de 3 AA successifs : triplets, ou bien 3 AA non successifs dans la séquence protéique mais « accolés » dans la structure 3D de la molécule. Cette découverte a permis d'expliquer les CREG : *Cross Reactive Groups*. Ces derniers sont des groupes d'antigènes HLA pour lesquels il existe une immunité croisée, c'est-à-dire qu'un seul anticorps peut être réactif envers 2, 3 ou plus d'antigènes HLA différents qui partagent un ou des épitopes.

L'allo-immunité est liée à la reconnaissance d'allo-antigènes. Ces derniers peuvent être des peptides étrangers ou des molécules HLA étrangères. En greffe, les allo-antigènes sont principalement les molécules HLA du donneur provoquant un phénomène de rejet médié par l'immunité cellulaire et humorale du receveur. Cette dernière est liée à la production d'anticorps qui vont cibler les molécules HLA du donneur. Les molécules HLA allo-géniques sont présentées aux LT du receveur soit de façon directe à la surface des CPA du donneur contenues dans le greffon, soit de façon indirecte après « digestion » des molécules HLA du donneur par les CPA du receveur (6,7).

3.1.2 Caractérisation HLA et définitions

La nomenclature internationale HLA permet d'identifier au niveau allélique le système HLA de chaque individu. Un exemple pour illustrer : **HLA-B*14 :02**, HLA correspond au nom du gène, B correspond au *locus*, 14 correspond au groupe allélique (typage à 2 digits ou sérologique), 02 correspond au numéro de l'allèle au sein du groupe allélique 14 (typage à 4 digits soit moléculaire).

Le typage HLA d'un individu peut se faire de deux façons. La première, par lymphotoxicité (LCT) qui consiste à mettre en contact les lymphocytes d'un individu avec des sérums contenant des spécificités d'anticorps anti-HLA connues. Après l'adjonction de complément de lapin puis de marqueur de viabilité, il est possible d'en déduire le typage

HLA au niveau du groupe allélique. La deuxième par biologie moléculaire, consiste à extraire l'ADN des cellules, l'amplifier par PCR puis réaliser un séquençage haut débit, permettant ainsi d'obtenir un typage au niveau allélique.

Pour l'identification des anticorps dirigés contre le système HLA, là encore, il existe deux grandes techniques. Historiquement, leur détection était réalisée par LCT. Des lymphocytes présentant un panel de molécules HLA connues étaient mis en contact avec le sérum d'un patient. Après l'adjonction de complément de lapin et de marqueur de viabilité, il était déduit les spécificités des anticorps présents ou non dans le sérum testé en fonction des cellules lysées. Cette technique permettait de déduire le *panel reactive antibody* (PRA) correspondant au pourcentage de réactivité d'un sérum vis-à-vis d'un panel de molécules HLA connues. A noter que l'immunisation en classe II était sous-estimée devant la proportion majoritaire de LT comparé aux LB parmi les lymphocytes présentés. Cette technique, moins sensible que la fluorimétrie, que nous détaillerons ci-dessous, permet tout de même d'identifier les anticorps anti-HLA activant le complément, ainsi que les IgM (dont l'activité est négativée par l'adjonction de dithiothréitol, agent réduisant les ponts disulfures essentiel à l'activité des IgM). Il est encore réalisé une fois pour chaque patient sur liste d'attente de greffe rénale.

Depuis 2007, la fluorimétrie en flux ou le Luminex est devenue la technique la plus utilisée dû à sa grande sensibilité. Les antigènes HLA connus sont purifiés et fixés sur des billes fluorescentes, le sérum à tester est ajouté. Un anticorps anti-IgG humain couplé à un fluorochrome est ensuite ajouté. L'ensemble est ensuite analysé par cytométrie en flux avec détection des émissions des 2 fluorochromes. Cette technique a l'avantage d'être qualitative et semi-quantitative. En cas de fixation, il en est déduit une intensité de fluorescence exprimée en Mean Fluorescence Intensity (MFI) corrélée à l'intensité de

fixation des anticorps sur la bille. Il existe 2 types de tests : le *screening* où les billes portent plusieurs molécules HLA différentes, ou le *single antigen* (SA) où chaque bille porte une seule spécificité HLA. Les inconvénients sont l'absence de standardisation avec une variabilité entre laboratoires des résultats. Par ailleurs, le Luminex ne détecte que les IgG sans connaître leur activité vis-à-vis du complément. Le seuil de positivité est de 500 de MFI.

A partir de 2009, suite à l'utilisation répandue du Luminex, l'immunisation d'un patient vis-à-vis du système HLA a pu s'exprimer en Taux de Greffon Incompatible (TGI). Il correspond au taux de greffons en iso-groupe proposés sur les 5 dernières années pour lesquels un patient présente un anticorps anti-HLA de façon significative vis-à-vis des molécules HLA-A, B, DR et DQ du donneur. Plus ce taux s'approche de 100% plus le patient est considéré comme immunisé. Ce taux est recalculé toutes les nuits à partir de la base de données CRISTAL. Le *calculated PRA* (cPRA) est l'analogue anglophone, calculé à partir des typages HLA des 12 000 derniers donneurs pour les molécules A, B, C, DR, DQ.

L'immunisation d'un patient en greffe rénale est donc principalement évaluée par la présence ou non dans le sérum de ces anticorps anti-HLA. Il en découle les définitions des patients immunisés et HI. Un patient possédant un anticorps anti-HLA de façon significative pour les molécules A, B, DR, ou DQ est considéré comme immunisé. En France, un patient présentant un TGI historisé >85% est considéré comme HI. Il convient de remarquer que ces définitions ne sont pas homogènes à travers le monde et posent un problème de comparaison entre les études.

Par ailleurs, un autre marqueur d'immunisation utilisé en France est le score de Facilité d'Accès à la greffe (FAG) qui correspond au nombre de donneurs prélevés dans l'inter-région sur les 5 dernières années, en iso-groupe, après exclusion des donneurs HLA incompatibles (en fonction des spécificités des anticorps anti-HLA du receveur), avec lesquels le receveur a présenté au maximum 3 incompatibilités HLA.

L'étape ultime pour évaluer la compatibilité entre donneur et receveur reste le *cross-match* (CM). Le CM est réalisé en LCT par mise en contact des lymphocytes du donneur, prélevés dans les ganglions pour les donneurs décédés ou du sang total pour les donneurs vivants, avec le sérum du receveur, au jour de greffe et sérum à la date du pic d'immunisation. Après ajout de complément, il est déterminé s'il y a une lyse cellulaire des cellules du donneurs ou non. Il est possible de détecter si ce sont des IgG (positif avec du dithiothréitol) ou IgG + IgM (sans dithiothréitol). Une positivité vis-à-vis des LT ou des lymphocytes totaux avec le sérum du jour de greffe du receveur constitue une contre-indication à la greffe. Un CM en cytométrie en flux est réalisable, à la place du complément il est ajouté des anticorps anti-Ig humaines couplés à un fluorochrome, puis les lymphocytes sont analysés en cytométrie en flux. Cette technique est plus sensible qu'en LCT et détecte des anticorps n'activant pas forcément le complément. En France, un CM en cytométrie positif n'est pas une contre-indication à la greffe (8).

3.1.3 *Suivi immunologique des patients sur liste ou greffés rénaux*

En France, la greffe est orchestrée par l'agence de biomédecine qui coordonne notamment la base de données et le logiciel CRISTAL. Ce dernier permet de répertorier chaque patient sur liste d'attente de greffe rénale, avec ses données démographiques et immunologiques nécessaires à l'attribution des greffons. Ces données sont communiquées par les équipes de greffe.

En greffe rénale, le typage HLA pris en compte pour l'attribution est dit « sérologique » à 2 digits pour les molécules A, B, DR, et DQ.

A l'inscription sur liste de greffe, le patient bénéficie de 2 déterminations de son typage HLA, ainsi que de 2 *screening* des anticorps anti-HLA I-II par méthode sensible (le plus souvent par Luminex) et une fois par LCT avec et sans dithiothréitol, sur 2 sérums à 3 mois d'intervalles. En cas de positivité des *screening*, une identification des anticorps anti-HLA par SA est nécessaire.

Sur liste d'attente, en cas d'évènement immunisant (grossesse, transfusion, détransplantation ou allo-greffe) de nouveaux *screening* d'anticorps anti-HLA sont nécessaires à J14, M1, M2 et M3. De plus, de façon systématique, un *screening* doit être réalisé tous les 3 mois, maximum tous les 6 mois. La réalisation de SA est laissée à la discrétion des immunologistes de chaque centre. Une recherche d'IgM en LCT est recommandée une fois par an.

Après la greffe, un *screening* des anticorps anti-HLA à M3 puis 1 fois par an est recommandé. En cas d'évènement immunisant, des nouveaux dépistages d'anticorps anti-HLA sont nécessaires à J14, M1, M2 et M3. En cas de grossesse, un suivi par mois à partir du troisième mois de grossesse est indiqué.

Les anticorps anti-HLA inscrits dans CRISTAL sont ceux dirigés contre les molécules HLA-A, B, DR, DQ au niveau sérologique (2 digits). Le seuil de positivité en Luminex est égal à 500 (MFI). Le seuil de significativité, et donc d'inscription de la spécificité de l'anticorps dans la base de données CRISTAL, est égal à 2000 (MFI) selon l'agence de biomédecine ; à Lille le seuil de significativité est fixé à 1000 (MFI). L'antigène HLA ciblé par l'anticorps rentré dans la base de données CRISTAL est alors « interdit » pour les propositions ultérieures de greffons.

Par la suite, l'attribution des greffons dépend du score REIN attribué à chaque patient sur liste comprenant : la durée d'attente sur liste, la durée d'attente en dialyse, l'appariement HLA en A, B, DR et DQ, le score de FAG, la différence d'âge et le temps de trajet séparant le receveur et le donneur (9).

3.1.4 Les anticorps anti-HLA – DSA : pathogénicité

L'immunisation anti-HLA désigne la production d'anticorps anti-HLA qui sont non constitutionnels, à la suite d'évènements dits « immunisants » : grossesse(s), transfusion(s), et/ ou allo-greffe (4). Il faut noter que les infections ou des évènements pro-inflammatoires semblent aussi être des sources de majoration de l'immunisation HLA chez des patients HI (10).

Les *Donor Specific Antibody* (DSA) sont des anticorps dirigés contre des antigènes HLA du donneur. Ils peuvent être préformés, c'est-à-dire, détectés avant la greffe ou bien *de novo* (DSAdn), c'est-à-dire, qu'ils apparaissent après la greffe.

Les variables associées à la pathogénicité des anticorps anti-HLA en greffe rénale restent discutées à l'heure actuelle. Certaines études considèrent que les anticorps anti-HLA non DSA et leurs nombres ne grèvent pas le pronostic en termes de rejet à 1 an, de survie greffon et de fonction rénale à 5 ans (11,12). Au contraire, d'autres équipes leur attribuent un effet délétère sur la survie du greffon, avec un risque de perte de greffon qui augmente de façon linéaire en fonction de l'augmentation du PRA, et un plus haut risque de glomérulopathie du transplant (13–15)

Pour les DSA, la littérature est plus unanime, avec un effet négatif sur la survie greffon, le rejet, et la fonction rénale (16). Cependant, différents niveaux de pathogénicité semblent exister en fonction des différents types de DSA.

- Les DSAdn se développent chez 13 à 27% des patients greffés non immunisés dans un délai médian de 4,6 +/- 3 ans. Ils semblent plus pathogènes que des DSA préformés avec un sur-risque de rejet et de survie greffon à 10 ans (17,18) même parmi les patients HI (19).
- L'activation du complément médié par les anticorps est un élément clef dans la physiopathologie du rejet aigu humoral. Les DSA ayant la capacité de lier la fraction C1q du complément sont plus à risque en termes de rejet humoral, et de survie de greffon. Par ailleurs, la capacité des DSA à lier la fraction C3d, plus tardif dans la cascade du complément, semble aussi jouer un rôle pathogène comparé aux DSA ne le liant pas (20).

3.2 Population Hyperimmunisée en transplantation rénale

3.2.1 Caractéristiques

Le rapport de l'agence de biomédecine recense en 2018, 14% de patients HI incidents sur liste d'attente de transplantation rénale, correspondant à 25,5% de patients HI prévalents sur liste soit 3660 patients. Cette prévalence a considérablement augmenté quand on regarde les chiffres de 2009 où les HI prévalents sur liste était seulement de 7%. Cela est dû, en partie, à l'intégration en 2009 de la technique Luminex, plus sensible, à la place du PRA par LCT, pour définir l'immunisation anti-HLA et donc par le TGI. Le rapport de 2011 retrouve sensiblement la même incidence et prévalence de patients HI qu'en 2018 (5,21). A la différence de la liste d'attente tous patients confondus, les femmes représentent 60% des patients HI. Ils sont jeunes avec une moyenne d'âge d'environ 46 ans (4,22). Dans une cohorte de 32 039 patients avec un cPRA>98%, les sources d'immunisation sont

principalement des greffes antérieures (53%), des grossesses (47%), et des transfusions (38%). Il faut noter que 10% d'immunisation sont de causes inconnues (4). Dans la littérature, la nature des anticorps anti-HLA : classe I-II, le nombre et les spécificités sont difficiles à identifier vu l'hétérogénéité des cohortes, les données portant principalement sur les pics et sommes des DSA préformés.

3.2.2 Accès à la greffe

L'accès à la greffe est fortement influencé par le TGI qui affecte négativement et de façon exponentielle la possibilité de greffe des patients HI (23). Parmi les patients greffés sur l'année 2018, 13% sont HI. La probabilité d'être greffé à 24 mois est de 29% chez les HI contre 52% chez les non immunisés. La médiane d'attente de 34 mois (21).

3.2.3 Solutions d'accès à la greffe

Afin d'améliorer l'accès à la greffe rénale, plusieurs thérapeutiques et techniques sont proposées.

Priorités établies par l'agence de biomédecine

Tout d'abord, l'agence de biomédecine a établi des priorités pour les patients HI. De façon schématique lorsqu'il y a un donneur décédé dans un centre préleveur, un rein reste au niveau local et est attribué selon le score REIN (sauf si le donneur est jeune avec une différence d'âge entre donneur/receveur > à 20 ans). Le second rein est attribué selon les priorités nationales, puis les priorités inter-régionales, puis de façon régionale selon le Score National d'Attribution au Patient (SNAP). Pour les priorités nationales, le rein est d'abord attribué à des cas dits de « super-urgence » après avis d'experts, puis aux cas de greffes combinées, puis aux patients HI remplissant les critères d'accès au programme :

Hyperimmunisés Antigènes Permis (HAP). Ce programme existe en France depuis 2005 et s'est inspiré du programme *Acceptable Mismatch* de l'*Eurotransplant group*.

Les critères d'éligibilité sont :

- Un TGI historisé >85% ET un TGI au jour de greffe >70%.
- Avoir la saisie, par les immunologistes, des antigènes « permis », c'est-à-dire des antigènes HLA pour lesquels le patient n'a jamais (sur tous ses sérums) développé d'anticorps avec une MFI > à 500, mis-à-jour avec un sérum de moins de 105 jours dans la base de données.
- Être inscrit sur liste de greffe depuis > 18 mois (évolution depuis 2015)

Pour ces patients « HAP » il y a alors 3 priorités supplémentaires, pour les donneurs :

- *Full match*, c'est-à-dire sans aucune incompatibilité entre le système HLA en A, B, DR et DQ entre le receveur et le donneur.
- *Quasi-Full match*, c'est-à-dire un donneur avec au maximum un mismatch en A, B, DR ou DQ
- Qui n'a pas plus de 4 incompatibilités A, B, et DR, dont pas plus d'une incompatibilité DR, ni plus d'une incompatibilité DQ et ni plus de 2 incompatibilités B, DR. Les incompatibilités restantes doivent correspondre à des antigènes permis.

Il faut savoir que ces priorités sont valables que si le différentiel d'âge est < à 15 ans entre le donneur et le receveur, si le donneur est plus jeune que le receveur et que le receveur est plus âgé que 50 ans.

Un autre avantage réside dans les dérogations pour les groupes sanguins ABO. A partir d'un TGI > à 85% les patients AB peuvent bénéficier des donneurs A et les patients B peuvent bénéficier des donneurs O. A partir d'un TGI > à 95%, les receveurs peuvent bénéficier de tout greffon venant d'un donneur compatible sans restriction (9,24).

Don vivant croisé

Une autre possibilité peut être le don vivant croisé. Lorsqu'un donneur vivant n'est pas compatible avec son receveur, il est possible de les inscrire sur une liste et d'attendre qu'une autre paire donneur/receveur soit compatible. Cependant cette alternative, réalisable depuis 2011 entre 2 paires de donneurs receveurs uniquement, ne représente que très peu de greffe en France. Pour exemple en 2018 : 90 paires de patients étaient inscrites mais aucune greffe n'a pu être réalisée (21).

Meilleur appariement

Une autre démarche consiste à apparier le mieux possible les patients HI afin de minimiser le risque immunologique après la greffe. En effet, il a été montré qu'il existe une variabilité d'immunogénicité (soit la capacité de produire des anticorps chez le receveur) en fonction des différents antigènes HLA du donneur selon le typage HLA du receveur (25). Ceci met en exergue très probablement l'impact des CREG's et donc du partage épitopique de certaines molécules HLA, dans l'appariement des greffons. Dans cette idée il a été développé un logiciel : *HLA MatchMaker* qui consiste à comparer les mismatches entre les *eplets* (ou épitopes fonctionnels) du donneur et du receveur à partir du typage moléculaire (26). Une « charge épitopique » est alors attribuée à chaque couple donneur/receveur permettant d'essayer d'apparier au mieux les greffons.

Il est alors possible de différencier les *Antibody verified epitope* qui sont les épitopes pour lesquels des anticorps ont été produits et confirmés de façon expérimentale en clinique, des autres épitopes qui sont des simulations *in-silico* selon la structure tridimensionnelle des molécules HLA connues. Ce logiciel est utilisé à l'heure actuelle pour autoriser ou non certains mismatch en classe I (les mismatch avec aucune charge épitopique sont

considérés comme acceptables) dans le programme *Acceptable Mismatch* d'Eurotransplant Group (27,28). Parmi les patients HI greffés grâce au protocole *Acceptable Mismatch* les résultats sont favorables (29). Par ailleurs après vérification rétrospective dans 2 cohortes de transplantés canadienne et américaine, il est retrouvé que chaque tranche de 10 *Antibody verified epitopes Mismatch* supplémentaire est un facteur de risque indépendant de perte de greffon avec un Hazard Ratio de 1.231 [95% CI 1.195 - 1.268] (30).

Protocoles de désimmunisation active

Le principe consiste à, de façon artificielle, épurer les anticorps anti-HLA préformés, moduler leur activité et leur nouvelle production ultérieure en cas de nouvelle greffe. De nombreux protocoles divers ont vu le jour depuis les années 1995-2000 donnant lieu à plusieurs études principalement rétrospectives non randomisées non contrôlées, avec des critères d'inclusion et de jugement variés. De plus, certains centres utilisent ces protocoles pour permettre une greffe avec don vivant et d'autres pour augmenter les chances de bénéficier d'un greffon de donneur décédé sur liste d'attente, rendant les résultats d'interprétation délicate.

- Les Immunoglobulines Intra-veineuses (IVIg) à visée immunomodulatrice (2g/kg/mois pendant 4 mois) testées contre placebo, permettent un meilleur accès à la greffe mais avec un nombre important de rejet (50% à 2 ans pour le groupe IVIg versus 10% pour le groupe placebo) (31).
- Un essai de phase I-II associant IVIg (2g/kg/mois pendant 2 mois) et Rituximab (1g J7 et J22) en pré-greffe chez 20 patients, permet à 16 patients (80%) d'accéder à la greffe dont 10 par donneur vivant grâce à une baisse significative du PRA de 77%

à 44% en moyenne. Cependant le taux de rejet reste haut : 50% à 1 an ou 37% à 2 ans selon une autre étude sur 76 patients (32,33).

- L'Eculizumab utilisé en post-greffe de façon répétée semblait diminuer l'incidence du rejet chez des patients HI ayant bénéficié d'EP en prégreffe (34). Par la suite, les études n'ont pas permis de montrer de bénéfice en terme de survie greffon ou de rejet (35,36).
- Les Echanges Plasmatiques (EP) associé à des IVIg (100mg/kg) faibles doses, 3 fois par semaines pré-greffe semblent permettre un accès satisfaisant à la greffe avec un taux de rejet d'environ 27,7% à 18 mois de suivi, et une survie greffon de 95% à 1,5 ans (37–39).
- L'association EP, IVIg avec l'ajout de Rituximab semble permettre une diminution du rebond d'anticorps anti-HLA, mais ne modifie pas le taux de rejet ou la survie greffon à 5 ans (40). Cette triple association immunosuppressive à partir du J0 de greffe chez 95 patients avec des DSA préformés historiques ou au jour de greffe >3000 de MFI permettait d'obtenir, après 6,7 ans de suivi 33% de Rejet Aigu Humoral (RAH) et 12% de Rejet Aigu Cellulaire (RAC) et une survie greffon de 72% (22).
- Des techniques d'immuno-adsorption ont été essayées. Ceci consiste à réaliser une aphérèse semi-sélective, c'est-à-dire, qui va permettre d'éliminer du plasma certaines Ig après passage dans une colonne adsorptive présentant les antigènes cibles. L'utilisation de séances d'immuno-adsorption avant et après greffe a permis de négativer le CM chez 21 patients sur 68, avec une survie greffon à 5 ans de 76% et une survie patient de 87%. Vingt-quatre pour cent de RAH et 14% de RAC étaient observés (41).

3.2.4 *Survie et pronostic de greffe*

Deux grandes études américaines ont comparé la survie des patients HI (cPRA moyen 66%) greffés avec des reins issus de donneurs vivants grâce à une désimmunisation active, versus 2 groupes contrôles : des patients HI restant sur liste qui bénéficient ou non d'une greffe HLA compatible de donneur décédé (*waiting list or transplant group*) ou des patients HI qui restent sur liste sans être jamais greffés (*waiting list only*). Il est retrouvé une survie des patients nettement favorable à la greffe même avec incompatibilité et désimmunisation active (à 8 ans 76,5% vs 62,9% et 43,9% respectivement) (37,42). Ces études ont été contrebalancées par une étude britannique qui a repris la même comparaison à la différence près que le groupe *waiting list only* était un groupe de patients en attente de greffe qui était censuré pour la survie le jour de greffe s'ils étaient greffés afin d'éviter un biais de sélection parmi ce groupe contrôle. Les résultats ne trouvent pas de différence significative de survie patient entre la greffe incompatible avec désimmunisation active versus attente sur liste de greffe ou en dialyse. D'autres biais peuvent expliquer les résultats contraires de ces études, comme une moins bonne survie en dialyse aux États-Unis, des cPRA plus faible dans les études américaines, des périodes d'inclusions différentes, des protocoles de désimmunisation hétérogènes.

La survie greffon chez les patients HI dépend principalement des traitements pré-greffe reçus et des protocoles dont ils ont pu bénéficier pour accéder à la greffe. Dans la littérature les études sont principalement rétrospectives, avec des définitions des patients HI, des protocoles d'accès à la greffe, et des critères de jugements variés rendant incertaines les données concernant cette population. Toutefois, sur une revue de la littérature des protocoles de désimmunisation active de 2011, on observe une survie greffon de 86% avec un temps moyen de suivi de 23 mois (43). En 2017, une cohorte

parisienne de 134 patients HI traités en pré-greffe par EP, IVIg, et Rituximab avaient une survie greffon de 78,4% en moyenne lors d'un suivi d'environ 6,5 ans (22). Lorsqu'on s'intéresse aux patients greffés par le protocole *Acceptable Mismatch* d'*Eurotransplant group*, on observe une survie greffon à 10 ans de 72,8% similaire aux patients immunisés mais non HI, et significativement différente de patients HI greffés non grâce à ce programme (62,4%). Les biais à relever sont une période de greffe plus récente (2006-2015 vs 1995-2006) et des donneurs plus jeunes pour les bénéficiaires du programme *Acceptable Mismatch* (28).

Concernant l'incidence de rejet, il est retrouvé 36% de rejet aigu dont 28% de rejets humoraux à 23 mois après protocoles de désimmunisation active variés (43). Aux Etats-Unis parmi les patients HI greffés par des donneurs décédés le taux de rejet est de 23% dont 14% de rejets humoraux dont 30% qui ont reçu du Rituximab (375mg/m²) pour des DSA préformés au jour de greffe sans positivité du CM en cytométrie en flux, et 5% des patients qui ont reçu des EP et des IVIg pour un CM positif en cytométrie en flux. Chez les patients sans DSA préformés au jour de greffe, le taux de rejet était de 10,8% dont 5,4% de rejets humoraux, avec un suivi médian de 1,9 ans (44). Avec le protocole *Acceptable Mismatch* le taux de rejet était équivalent entre les patients bénéficiant du protocole et les patients non ou peu immunisés (cPRA 0-5%) à 6 mois de greffe et significativement plus bas que les patients HI greffés sans le protocole. Là encore, le principal biais est que la période de greffe était plus récente pour les patients ayant eu accès au protocole (29).

3.3 La désimmunisation non-active (DNA)

3.3.1 Principe

La DNA se base sur le fait qu'il est observé une fluctuation des MFI des anticorps anti-HLA dans le temps. Les raisons de cette fluctuation ne sont pas connues mais pourraient être dûes à la modulation du système immunitaire en fonction des *stimulus* antigéniques (10). Une hypothèse décrite par *Togninalli* est que les sources d'immunisation antérieures semblent influencer l'évolution des anticorps anti-HLA (45). A partir de ce constat, il a été évoqué que certains anticorps, dont la MFI a tendance à diminuer dans le temps, pourraient être moins pathogènes que les autres. Ainsi des greffes pourraient être autorisées avec des donneurs possédant ces antigènes HLA. Ce principe est en faveur d'une sorte de « désimmunisation naturelle » des patients au fur et à mesure du temps, mais est à l'encontre du principe de mémoire immunologique décrit depuis des décennies. Ce concept appliqué aux HI permet de diminuer l'immunisation de ces patients en ne considérant plus ces antigènes anti-HLA comme interdits.

3.3.2 Rationnel

En France, le Pr JL Taupin, a développé le concept de DNA en transplantation rénale. Peu de littérature existe sur ce sujet. Une première série Nantaise avait été présentée en 2017 regroupant 84 patients HI pour lesquels les anticorps anti-HLA étaient retirés de la base de données CRISTAL lorsqu'ils passaient sous le seuil des 3000 de MFI de façon stable pendant plus de 3 ans. Cette diminution de l'immunisation avait permis de greffer 14 patients avec au moins un DSA historisé. La survie greffon et la fonction rénale était similaire aux patients inclus dans ce protocole mais qui n'avaient pas été greffés grâce à cette DNA, donc sans DSA historisé (46). Une autre publication du même auteur, reprenait de façon rétrospective des patients HI greffés avant 2009 et donc avant l'utilisation

systématique du Luminex. En identifiant rétrospectivement les anticorps anti-HLA chez ces patients, 92 patients avaient été greffés avec des DSA préformés. Ceux qui avaient une somme de DSA préformés autour de 3000 de MFI avaient un moins bon pronostic de greffe que ceux qui avaient une somme de DSA préformés autour de 1000 de MFI, avec une incidence du rejet de 40% *versus* 16%(47).

De façon plus ancienne, *Cardella* et *Goeken* avaient déjà observé une survie greffon et survie patient similaires entre les patients avec un CM en LCT négatif avec tous les sérums et les patients avec un CM en LCT négatif avec le sérum du jour de greffe mais positif avec un sérum historisé (48,49).

En 2010, une étude a pu montrer que parmi les patients avec des DSA préformés, ceux dont le pic de MFI de la somme des DSA avant greffe était supérieur à 3000 de MFI avaient un moins pronostic que ceux donc ce nombre était inférieur à 3000 (16).

En 2014, une équipe new-yorkaise a pu suivre de façon prospective des patients greffés avec ou sans DSA préformés. Le groupe de patients avec des DSA préformés avait des DSA dont la MFI avait été considérée comme acceptable c'est-à-dire entre 1000 et 5000 en A, B, DR et 1000 et 10 000 en DQ. La survenue du rejet et la survie greffon était similaire entre les deux groupes. Il faut tout de même relever l'ajout au protocole d'immunosuppression d'IVIg 1,5-2/kg réparti sur 3j en début de greffe pour le groupe « avec DSA » (50).

En 2017, une étude a comparé des patients greffés sans DSA, avec DSA mais avec un CM négatif ou faiblement positif en cytométrie en flux, et des patients avec des DSA et un CM positif fortement en cytométrie en flux. La somme de la MFI des DSA le jour de greffe était significativement différente entre le 2^{ème} et le 3^{ème} groupe respectivement autour de 2500 *versus* 10 000. Le pronostic de greffe était aussi différent pour les groupes avec

DSA, avec une augmentation de l'incidence du rejet humoral actif, de perte du greffon, et un moins bon Débit de Filtration Glomérulaire (DFG) à 1,2 et 5 ans (51).

Ces études sont en faveur d'un *cut-off* de « pathogénicité » autour de 3000-5000 de MFI de DSA préformés, qu'il convient de pondérer par le fait qu'il s'agit d'un seuil choisi de façon empirique, issu d'une technique semi-quantitative, évalué dans des cohortes très hétérogènes au niveau de l'immunisation, avec des protocoles d'immunosuppression variables et des critères de jugement différents. Par ailleurs, il doit être pris avec beaucoup de précaution vu la variabilité inter et intra laboratoire de la technique Luminex.

3.3.3 A Lille – Objectifs de thèse

Au CHRU de Lille, le protocole de désimmunisation active a montré une incidence importante de RAH avec une survie greffon médiocre à 32,5 mois. Dans ce contexte, depuis novembre 2015, il a été décidé de faire bénéficier à certains patients HI d'un protocole de DNA durant lequel les anticorps anti-HLA étaient soustraits de la base de données CRISTAL s'ils passaient en-dessous de la valeur seuil de 3000 de MFI, avec un suivi rapproché tous les 3 mois par SA. L'objectif de ce travail est principalement de décrire la population ayant bénéficié d'une DNA qu'ils aient été greffés ou non. Les points détaillés de ce travail ont porté sur :

- La description de l'immunisation pré-greffe de ces patients, l'évolution de leurs anticorps anti-HLA sur liste de DNA, et pour les patients greffés : l'évolution au jour de greffe et après la greffe.
- Le pronostic des patients ayant bénéficié d'une greffe selon la survie patient, la survie greffon censurée pour le décès, l'incidence de rejet et le DFG chez ces patients greffés grâce à la DNA

- Essayer d'identifier les facteurs d'accessibilité à la greffe et d'efficacité du protocole, de perte du greffon et de rejet parmi les patients bénéficiant de cette DNA.

4 Matériels et Méthodes

4.1 Type d'étude

C'est une étude descriptive, rétrospective, mono centrique réalisée au CHRU de Lille.

4.2 Population étudiée

Nous avons étudié les patients qui ont bénéficié du protocole de DNA au CHRU de Lille entre novembre 2015 et le 31 décembre 2019, dont l'issue a été une transplantation rénale ou une sortie de protocole de DNA avant greffe. Les patients inclus dans l'analyse étaient :

- Hyperimmunisés, défini par un TGI historique >85%,
- Choisis en coordination par les équipes d'immunologie et de néphrologie comme candidat à la DNA et qui ont donc accédé au protocole de DNA à Lille comme décrite ci-après. La date de sortie de DNA était aussi choisie par les équipes de façon coordonnée.

Pour les patients greffés, les greffons provenaient tous de donneurs décédés, en iso-groupe ABO avec le receveur.

4.3 Protocole de désimmunisation non-active et déroulement de la greffe

La DNA à Lille consiste à suivre les anticorps anti-HLA par Luminex en SA tous les 3 mois sur liste d'attente de greffe à partir du moment où on décide de réaliser ce protocole jusqu'au jour de greffe ou jusqu'au jour où il est décidé que le patient sorte du protocole de DNA devant l'absence de bénéfice. Les spécificités des anticorps anti-HLA dont la MFI passait en dessous du seuil des 3000 de façon stable étaient retirés de la base de données CRISTAL et n'étaient donc plus interdits. Si ces derniers passaient de nouveau

au-dessus du seuil des 3000 de MFI alors ils étaient de nouveau « interdits » et ne pouvaient plus être changés de statut.

En cas de proposition de greffon, le CM était réalisé en LCT dépendant du complément entre les lymphocytes du donneur et le sérum du receveur par le laboratoire d'immunologie du CHR de Lille.

L'induction était réalisée par Ig de lapin anti-thymocytes humains (Thymoglobuline, Sanofi-Genzyme) 1,25mg/kg/j maximum 100mg, de J0 à J3 soit pendant 4 jours.

Les corticoïdes étaient débutés dès J0 par Methylprednisolone (Solumedrol, Pfizer) 500mg J0, 250mg J1, puis Prednisolone (Solupred, Sanofi-Aventis) 20mg/j.

Un anti-calcineurine de type Tacrolimus (Advagraf/Prograf, Astellas) était initié à J3 à 0,15mg/kg pour obtenir des résiduelles cibles entre 8-10 ng/mL pendant les 3 premiers mois de greffe puis entre 5-7 ng/mL par la suite.

Un anti-métabolite de type acide mycophénolique (Myfortic, Novartis) était initié à 540mgx2/j dès J0.

Durant le suivi, le traitement immunosuppresseur pouvait être amené à être modifié au cas par cas selon les complications infectieuses et effets secondaires des médicaments.

Le suivi après l'hospitalisation était réalisé en consultation de jour au CHRU de Lille avec un bilan biologique associé de façon systématique 2x/semaine les 15 premiers jours, puis 1 consultation/semaine pendant 1mois (de M1 à M2), puis 1 consultation/15j pendant 1mois (de M2 à M3), puis 1 consultation/mois jusqu'à M6. Par la suite le patient était suivi trimestriellement par un centre néphrologique de proximité ou par le CHRU de Lille avec une consultation systématique de façon annuelle au CHRU.

Les anticorps anti-HLA étaient dosés à M3, M12 puis 1x/an par *screening* associé ou non à un SA selon l'appréciation de l'immunologiste au cas par cas.

Une ponction biopsie rénale était réalisée de façon systématique à M3, et pour cause selon les critères clinico-biologiques. Ces biopsies étaient interprétées de façon centralisée par le centre d'anatomopathologie du CHRU de Lille.

La prophylaxie anti-pneumocystose était réalisée par Triméthoprime/ Sulfaméthoxazole (Bactrim, Roche), 800/160mg 2x/semaine jusqu'au 3^{ème} mois après greffe. La prophylaxie vis-à-vis du CMV était réalisée par Valganciclovir (Rovalcyte, Roche) chez les patients à risque c'est-à-dire si le donneur a une sérologie positive et le receveur est négatif ou si le receveur est positif. La posologie était adaptée à la fonction rénale et la molécule prescrite pendant les 6 premiers mois.

Le traitement des RAH se composait : de bolus de Methylprednisolone (Solumedrol, Pfizer) 1g/j pendant 3 jours, d'EP (6 séances en 2 semaines), ainsi que des IVIg de 100mg/kg après chaque échange, puis 2 injections à 1g/kg après le 6^{ème} échange. Dans ce cas les prophylaxie anti-pneumocystose et anti-CMV étaient reprises comme décrites ci-dessus.

Le traitement des RAC se composait de bolus de Methylprednisolone (Solumedrol, Pfizer) 1g/j pendant 3j successifs relayé par Prednisolone (Solupred, Sanofi-Aventis) 0,5mg/kg pendant 1 semaine suivi d'une décroissance de 5mg/semaine jusqu'à une dose d'entretien de 10mg/j.

4.4 Données recueillies

Nous avons recueilli :

- Pour tous les patients, sur le plan démographique : le sexe, poids, taille, la date de naissance, la néphropathie initiale, la date de début de dialyse et type de dialyse, la date d'inscription sur liste de greffe, la date de début de DNA.
- Pour tous les patients, l'immunisation initiale : typage HLA du receveur, nombre de grossesses et de transfusions, nombre et date de greffes rénales et non rénales antérieures, date et nombre de détransplantation s'il y avait, groupe sanguin, TGI historisé, typage HLA des greffes antérieures si disponible, classe I et/ou II d'anticorps anti-HLA avant DNA.
- Pour tous les patients, les données immunologiques qui correspondaient au recueil de la MFI de toutes les spécificités des anticorps anti-HLA (en typage moléculaire) pour chaque patient, pour tous les SA réalisés à partir de 2012 jusqu'à la date de leur dernier suivi après leur greffe (pour les patients greffés) ou à la fin de leur période de DNA (si non greffés). De plus, pour les patients greffés il était recueilli la date et les MFI du SA où les DSA préformés était historiquement le plus haut, ainsi que le pic du DSA historique le plus haut.
- Les données de greffe le cas échéant : date de greffe, nombre de MM ABDRDQ, TGI du jour de greffe, classe I et/ou II d'anticorps anti-HLA au jour de greffe, données sur le donneur (âge, sexe, taille, poids, typage HLA, cause du décès, utilisation d'une machine de perfusion du greffon), temps d'ischémie froide, résultat du cross-match, traitement d'induction, retard de reprise de fonction du greffon (RFG) (défini comme la nécessité de réaliser au moins 1 séance d'hémodialyse la première semaine post-transplantation sauf si elle était réalisée durant les 24 premières heures et/ou créatininémie persistant à plus de 30mg/L à J7).

- Les données de suivi de greffe : durée du suivi, date et cause de décès, date et cause de perte de greffon, incidence de RAH et/ou RAC prouvés à la biopsie rénale centralisé au centre d'anatomopathologie du CHRU, toutes les créatininémies réalisées en consultation de jour au CHRU de Lille avec calcul du DFG (Débit de Filtration Glomérulaire) par la formule MDRD (jusqu'au 31/12/2019), maintien de la trithérapie immunosuppressive ou non.
- Les données pour les patients sortis de protocoles de DNA sans être greffés : date de sortie de DNA, classe I et/ou II d'anticorps anti-HLA après DNA, date de décès.

A noter que, les techniques de détection d'anticorps HLA étaient réalisées et centralisées uniquement par le laboratoire d'immunologie du CHRU de Lille par technique Luminex. Par ailleurs, l'ensemble des données étaient recueillies grâce à la base de données CRISTAL, le logiciel d'analyse du Luminex : *Fusion*, et des dossiers bio-médicaux informatiques du CHRU (*Molis et Sillage*). Pour les transfusions il était répertorié uniquement les transfusions réalisées au CHRU de Lille à partir de la base de données eTraceline avant la date de début de DNA.

4.5 Analyses statistiques

Les variables qualitatives sont décrites par l'effectif et le pourcentage et les variables quantitatives sont décrites par la médiane et l'intervalle interquartile. Les courbes de survie sont estimées par l'estimateur de Kaplan Meier et les probabilités cumulées de transplantation et de rejet sont estimées par l'estimateur de Aalen-Johansen pour prendre en compte les éventuels risques compétitifs. La durée de suivi médiane a été calculée par la méthode du Kaplan Meier inverse. Une analyse par un modèle de Cox a permis

d'identifier les facteurs de risque de survenue de rejet et ceux de transplantation rénale. Face au faible nombre d'évènements, seuls des modèles univariés ont été réalisés pour limiter le risque de surajustement. Les hypothèses de log linéarité sont vérifiées et les hypothèses des risques proportionnels sont évaluées graphiquement par la méthode du log-minus-log. L'ensemble des analyses ont été effectuées avec le logiciel R 3.6.3.

5 Résultats

5.1 Population

Cinquante-sept patients ont bénéficié d'une DNA de novembre 2015 au 31 décembre 2019, cinquante-quatre ont été analysés : 2 ont été exclus car sont toujours en cours de DNA et en attente de greffe, 1 patiente a bénéficié d'une greffe pendant la DNA mais avec une désimmunisation active associée. Parmi les 54 patients restants, 32 ont été greffés durant la période de DNA et grâce à la DNA c'est-à-dire avec des DSA préformés en A, B, DR, et/ou DQ qui ont été soustraits de la base de données CRISTAL grâce à la DNA. Seize n'ont pas été greffés et sont sortis du protocole de DNA. Deux patients ont été greffés durant le protocole de DNA mais non grâce à des DSA préformés en A, B, DR et/ou DQ (avec des DSA préformés en C ou DP). Trois autres patients ont été greffés après sortie du protocole de DNA. Une patiente a accédé à la greffe grâce à un anticorps préformé B51 jamais détecté au CHRU mais dont l'antériorité ancienne avait été réalisée à Paris avec une MFI « historique » entre 2000 et 3000.

L'analyse des patients greffés a donc été faite sur 35 patients : 32 patients ainsi que les 2 patients greffés avec des DSA anti DP et/ou C préformés et la patiente greffée avec un anti-B51 historique. A noter, un patient parmi les 32 qui a bénéficié d'une greffe combinée foie et rein (**Figure 1**).

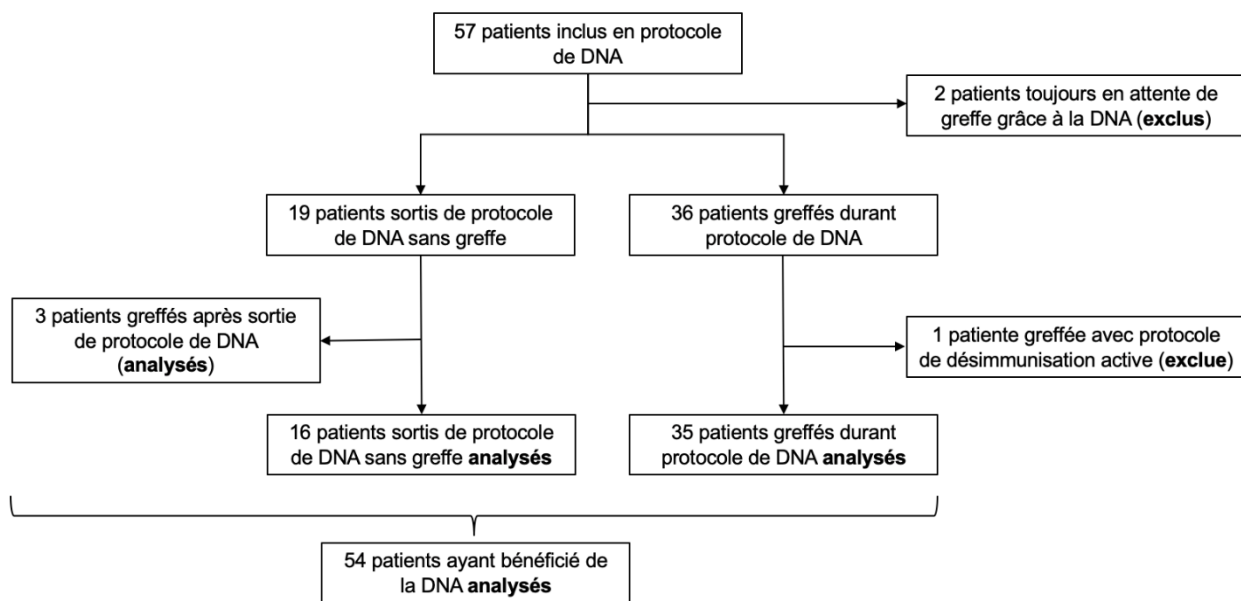


Figure 1. Flow chart de la cohorte de patients ayant bénéficié de la DNA : 54 patients analysés dont 35 patients greffés.

5.2 Données initiales des patients sur liste de DNA

Parmi les 54 patients, au jour d'inscription sur liste de DNA, la population est composée d'autant d'hommes que de femmes, avec une médiane d'âge de 50,68 ans (Q1-Q3 : 38,05 - 60,91). Les groupes sanguins étaient globalement similaires aux proportions de la population française, sans groupe AB. Un seul patient était inscrit sur liste de greffe en préemptif, la majorité était en hémodialyse (87,04%). Le délai médian de dialyse avant l'inscription sur liste de greffe était de 1,13 ans (Q1-Q3 : 0,03 - 2,90).

Le TGI historique médian était de 99% (Q1-Q3 : 98-100%). Les sources d'immunisation sont liées à des transplantations rénales antérieures pour 80% des cas. La majorité n'ont bénéficié que d'une seule greffe rénale antérieure (52%). Une seule patiente s'est immunisée à cause d'une transplantation non rénale antérieurement. La médiane de transfusions était de 2, et les femmes avaient eu 2 grossesses auparavant. Cinquante pour cent des patients ont subi une détransplantation avant leur inscription en protocole de DNA (**Tableau 1**).

Caractéristiques	Patients avec DNA n=54		Patients avec DNA n=35 greffés		Patients DNA non greffés n=16		
	Au jour d'inscription en DNA	%	Au jour de greffe	%	Au jour de sortie de DNA	%	
Age receveur (med)	50,68 (38,05-0,91)		46,4 (32,08-58,08)		60,4 (49,6-64,1)		
Sexe (n=hommes)	28	51,8	19	54,3	8	50	
IMC receveur (med)	23,69 (21,32-27,96)		24,4 (21,6-28,6)		23,8 (22-27)		
Groupe sanguin receveur (n=)							
	A	18	33	12	34	4	25
	B	6	11	3	9	3	19
	O	30	56	20	57	9	56
Maladie rénale initiale							
	Diabète	2	3,7	1	2,8	1	6,25
	Néphropathie congénitale	5	9,3	4	11,4	1	6,25
	Glomérulonéphrite	16	29,6	9	25,7	7	43
	Vasculaire	5	9,3	4	11,4	1	6,25
	Maladie kystique	9	16,7	6	17,1	1	6,25
	SHU	3	5,5	2	5,71	3	19
	Pyélonéphrite	9	16,7	6	17,1	0	0
	Autres	1	1,85	1	2,8	0	0
	Indéterminé	4	7,41	2	5,71	2	12,5
TGI historique (%)	99 (98-100)		99 (97-99)		100 (99-100)		
Immunisation HLA classe I (n=)	53	98,2	34	97,1	16	100	
Immunisation HLA classe II (n=)	51	94,4	31	88,5	15	93,8	
Rang de greffe (n=)							
	1	11	20	9	25	2	12,5
	2	28	52	18	52	9	56
	3	13	24	7	20	4	25
	4	2	4	1	3	1	6,5
Transplantation non rénale (n=)	1	1,85	1	2,8	0	0	
Nombre de Transfusions (med)	2 (0-6)		2 (0-10)		2 (0-5,25)	0	
Nombre de Grossesse (med)	2 (0-3)		2 (1,5-5)		0,5 (0-1,25)		
Détransplantation (n=)	27	50	18	51,4	7	43,8	
Temps en dialyse avant inscription (années)	1,13 (0,03-2,90)		1,14 (0,21-2,83)		1,76 (0-5,36)		
Délai entre inscription et DNA (années)	4,8 (3,07-6,22)		3,92 (2,62-5,37)		5,55 (4,58-7,04)		
Délai entre DNA et greffe/sortie DNA (jours)	173 (64-429)		136 (48-321)		186 (152-505,5)		

Tableau 1. Caractéristiques initiales des patients ayant bénéficié d'une DNA (n initial= 54), détaillées au jour de greffe pour les patients greffés sur liste de DNA (n=35) et au jour de sortie de protocole de DNA pour ceux qui n'ont pas été greffés (n=16)
Toutes les variables quantitatives sont exprimées en médiane avec leur intervalles interquartiles (Q1-Q3)

5.3 Suivi immunologique des patients sur liste de DNA

5.3.1 Délai entre l'inscription sur liste de greffe/ la DNA/ et la fin de DNA

Le délai médian entre l'inscription sur liste de greffe et l'inscription en protocole de DNA était de : 4,8 ans (Q1-Q3 : 3,07-6,22) pour les patients ayant bénéficié de la DNA. Ce délai était plus court pour les patients greffés grâce à la DNA : 3,92 ans (Q1-Q3 : 2,62-5,37), que pour les patients sortis de protocoles de DNA : 5,55 ans (Q1-Q3 : 4,58-7,04).

Le temps médian en protocole de DNA était de 173 jours (Q1-Q3 : 64-429) pour tous les patients, 136 jours (Q1-Q3 : 48-321) pour les patients greffés et 186 jours (Q1-Q3 : 152-505,5) pour les patients sortis de protocoles de DNA (**Tableau 1**).

5.3.2 Évolution du nombre et sommes des anticorps anti-HLA et DSA

Lorsqu'on regarde le nombre médian de spécificités d'anticorps au jour de début de DNA, on note un nombre médian de spécificités de 62 (Q1-Q3 : 32-98) pour tous les patients, 59 (Q1-Q3 : 31- 89) pour les 35 patients greffés et 92 (Q1-Q3 : 35-114) pour les 16 patients non greffés.

Au jour de greffe les 35 patients ont un nombre médian de 54 spécificités (Q1-Q3 : 30-81) et de 95 spécificités (Q1-Q3 : 36-116) pour les 16 patients au jour de sortie de protocole de DNA.

En termes de somme de MFI de toutes les spécificités d'anticorps HLA de ces patients, on retrouve une somme médiane au jour de DNA pour tous les patients de 356 151 (Q1-Q3 : 73 016- 776 766). Pour les patients greffés au jour de greffe ce chiffre est à 253 666 (Q1-Q3 : 64 029- 492 014) tandis que pour les patients non greffés au jour de sortie de DNA, il est de 744 284 (Q1-Q3 : 84 887- 1 003 342).

Lorsqu'on s'intéresse au nombre de spécificités de tous les DSA préformés (A, B, Cw, DR, DQ, DP) sur les 35 patients, on constate que les patients ont été greffés avec en moyenne 3,2 DSA préformés (min-max : 1-8) dont 2,3 (0-6) en classe I et 0,9 (0-3) en classe II. Lorsqu'on regarde le nombre de DSA « bloquants » en A, B, DR ou DQ qui ont pu être soustraits de la base de données CRISTAL était d'environ 2,7 par patient greffé dont 1,9 en classe I et 0,8 en classe II.

La somme historique des DSA diminue de 15 401 de MFI (Q1-Q3 : 5589-27 954) à 1 228 (Q1-Q3 : 647-3189) au jour de greffe.

Le pic historique des DSA passe de 7 789 MFI (Q1-Q3 : 3100-12 079) à 1 131 (Q1-Q3 : 628-2 345) de MFI le jour de greffe.

5.4 Données des patients selon le statut de greffe et facteurs d'accessibilité à la greffe

5.4.1 Données des patients greffés et données de la greffe

Au total, l'analyse porte sur 35 patients dont 33 qui ont été greffés grâce à des DSA préformés qui ont été soustraits de la base de données CRISTAL grâce à la DNA. Au jour de greffe le ratio hommes/femmes, la répartition des groupes sanguins, de l'IMC, des modalités de dialyse, le temps d'attente en dialyse, l'immunisation en classe I et/ou II, les origines d'immunisation (grossesses, transfusions, nombre de greffes rénales antérieures), le TGI historique, et le nombre de détransplantations, restent globalement les mêmes qu'au jour d'inscription en protocole de DNA (**Tableau 1**).

Concernant la greffe, elles ont eu majoritairement lieu en 2017 (37%), avec un nombre de mismatch A, B, et DR d'environ 4 par patient. En termes d'immunisation, on note une baisse marquée du TGI au jour de greffe puisqu'il passe à 77% (Q1-Q3 : 40,5-90,5). Un patient a été greffé avec un CM positif sur sérum historique mais négatif au jour de greffe. Un autre patient a été greffé avec un CM positif sur sérum historique et du jour de greffe, cependant une dérogation a pu être faite car il a bénéficié en urgence d'une greffe combinée foie et rein, avec un possible effet immunorégulateur du foie. Un patient B a bénéficié d'une dérogation ABO puisqu'il a été greffé avec un greffon O (**Tableau 2**).

Caractéristiques	Patients n=35	%
Age donneur (med)	54 (43,5-66)	
Sexe donneur (n=hommes)	18	51,4
IMC donneur (med)	25,2 (24-31)	
Groupe sanguin donneur		
	A	12 34
	B	2 6
	O	21 60
Cause décès donneur		
	Anoxie	12 35
	Traumatique AVP	3 9
	Traumatique non AVP	7 20
	Vasculaire	13 37
Année de greffe		
	2015	2 5,71
	2016	6 17,14
	2017	13 37,14
	2018	8 22,86
	2019	6 17,14
Nombre d'incompatibilité moyenne (A, B, DR)	4 (3-5)	
Temps médian d'ischémie froide (heures)	14,2 (11-16,4)	
Machine de perfusion (n=)	11	31,4
TGI jour de greffe%	77 (40,5-90,5)	
CM LCT positif (n=)	2	5,71
Présence d'un RFG (n=)	17	48,6
Détransplantation	18	51,4
Temps médian entre DNA et greffe (moy en jours)	136 (48-321)	

Tableau 2. Caractéristiques de greffe des 35 patients greffés sur liste de DNA. Toutes les variables quantitatives sont exprimées en médiane avec leur intervalles interquartiles (Q1-Q3)

5.4.2 Données des patients non greffés

Pour les données des patients non greffés, au jour de sortie de DNA, on retrouve 50% d'hommes, un âge médian de 60,4 ans, une forte immunisation avec un TGI historisé de 100% (Q1-Q3 : 99-100) avec un seul patient non immunisé en classe II. La proportion de

patient de groupe B est légèrement plus importante. Cinquante-six pour cent des patients avaient bénéficié d'une greffe auparavant. Quarante-trois pour cent ont eu une détransplantation au préalable. On observe 2 décès durant le temps de suivi, l'un suite à un choc septique secondaire à une fistule digestive et l'autre de cause inconnue (**Tableau 1**).

5.4.3 Facteurs d'accessibilité à la greffe

Trente-trois patients parmi 54 (61%) ont pu être greffés grâce à la DNA. La probabilité de greffe à 6 mois et à 1 an était respectivement de 39,3% IC95[17,1-61,5%] et 54,4% [22,4-86,4%], Ceci est illustré par une courbe d'incidence de greffe dans le temps après DNA (**Figure 2**).

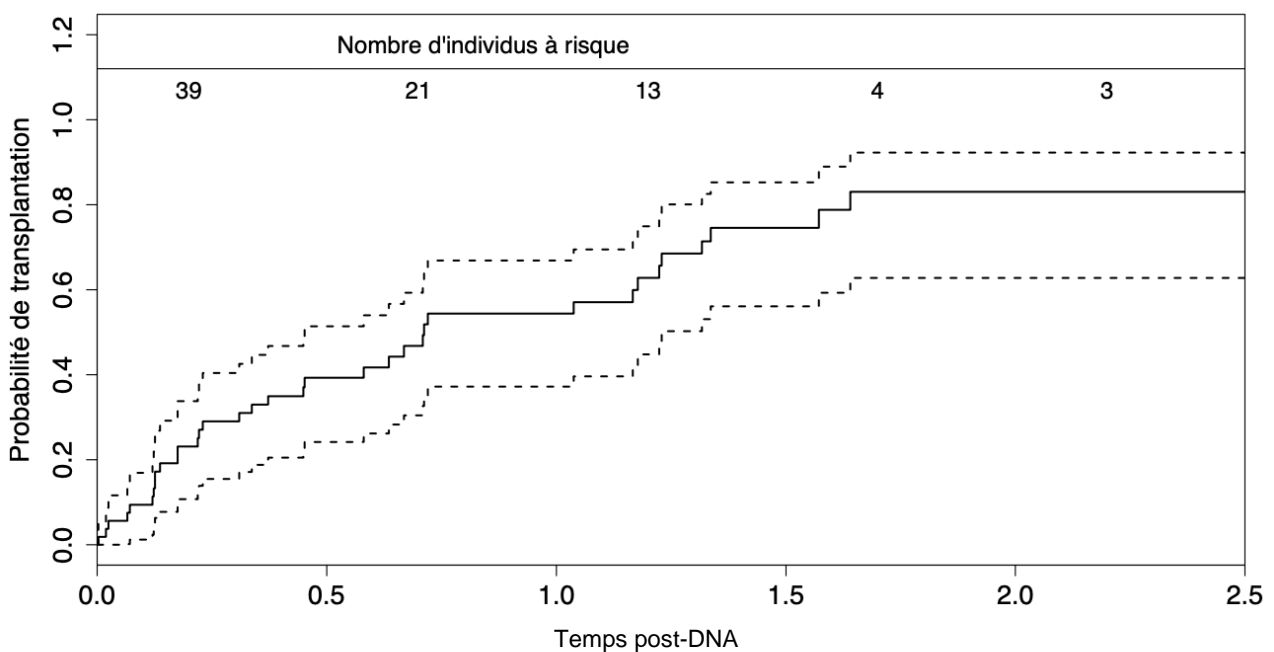


Figure 2. Courbe d'incidence cumulée de greffe parmi les patients en protocole de DNA (n initial= 54) Probabilité de greffe à 6 mois 39,3% IC95 [17,1-61,5%] et à 1 an 54,4% IC95 [22,4-86,4].

Après analyse univariée, il n'est pas retrouvé de facteurs favorisant la greffe entre les 2 cohortes de patients (**Tableau 3**), mis à part l'âge jeune du receveur qui semble favoriser

l'accès à la greffe HR=0,96 IC95[0,94-0,99] p=<0,01 et un délai entre l'inscription sur liste de greffe et le début de la DNA plus court HR=0,82 IC95[0,7-0,96] p=0,01.

Facteurs de survenue de greffe	HR	IC95	p
Sexe receveur (homme)	1,12	0,57-2,18	0,74
Rang de greffe			
>2greffes	0,64	0,29-1,45	0,29
>3greffes ou plus	0,62	0,24-1,62	0,33
Nombre de transfusions pré-greffe	1,02	0,99-1,04	0,17
Nombre de grossesses pré-greffe	1,13	0,98-1,31	0,10
Immunisation classe I	0,67	0,33-1,37	0,28
Immunisation classe II	0,57	0,23-1,38	0,21
TGI receveur	0,99	0,93-1,06	0,83
IMC receveur	1,04	0,96-1,11	0,34
Age receveur au jour de la DNA	0,96	0,94-0,99	<0,01
Temps en dialyse avant l'inscription	1,05	0,95-1,15	0,36
Délai entre inscription et DNA	0,82	0,70-0,96	0,01
Somme des MFI	1	1-1	0,47
Nombre de spécificité anti-HLA	0,93	0,86-1,01	0,07

Tableau 3. Facteurs d'accessibilité à la greffe chez les patients ayant bénéficié de la DNA
 Pour la somme des MFI, le HR est pour 1000 points de MFI
 Pour le nombre de spécificités anti-HLA, le HR est pour 10 spécificités

5.5 Suivi des patients greffés grâce au protocole de DNA

5.5.1 Survie patient et causes de décès

Durant le suivi médian de 2 ans (Q1-Q3 : 1,15-2,35) des 35 patients greffés, 3 patients sont décédés. Ils sont tous décédés avec des greffons fonctionnels. Une patiente est décédée à 39 mois après sa greffe d'un infarctus massif du myocarde. Une patiente est décédée à 1 mois après la greffe dans les suites d'un hématome précoce de la loge de transplantation. La dernière est décédée 23 mois après sa greffe dans un contexte de syndrome hépato-rénal chez une patiente cirrhotique Child-B9.

5.5.2 Survie greffon

Durant le même suivi de ces 35 patients on a observé 7 pertes de greffon. Le délai médian avant la perte de greffon était de 57 jours (Q1-Q3 : 14,5-154,5). La probabilité de survie de greffon à 6 mois et à 1 an est respectivement de 85,5% IC95 [71,8-99,3%] et de 82,2% [66,5-98%]. La **figure 3** illustre cette courbe de survie greffon jusqu'à 3 ans de suivi

post-greffe. Les causes de perte de greffon sont variées : rejets réfractaires au traitement (n=2), complications chirurgicales précoces (n=2), RFG sans sevrage de l'hémodialyse en post-transplantation (n=1), récurrence de néphropathie initiale à 1 mois de la transplantation (n=1), découverte d'un cancer testiculaire rapidement évolutif avec transplantectomie (n=1).

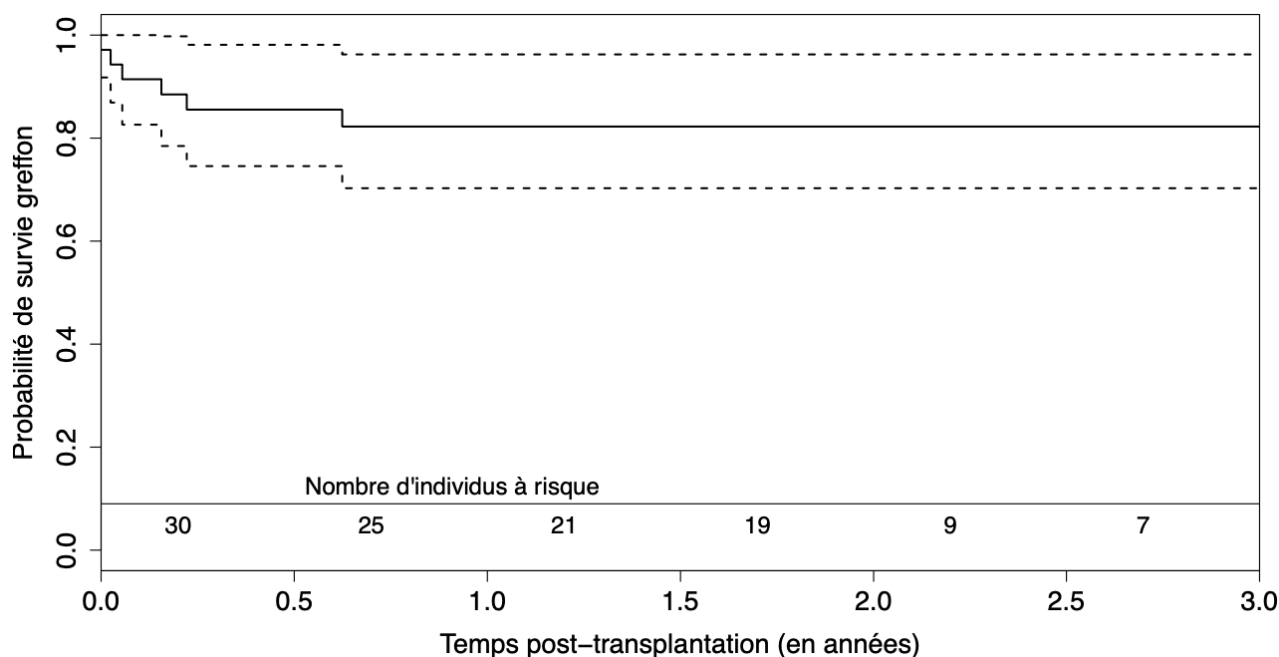


Figure 3. Courbe de survie greffon parmi les patients greffés (n initial= 35)
 Probabilité de survie greffon à 6 mois 85,5% IC95 [71,8-99,3] et à 1 an 82,2% IC95 [66,5-98].

5.5.3 Données sur le rejet et facteurs de risques de rejets

En parallèle, 11 patients sur 35 ont présenté un rejet objectivé à la biopsie rénale durant le suivi. Parmi ces rejets, 10 étaient des RAH et 1 était un RAC associé à des dépôts de C4d. Deux des RAH sont survenus chez les 2 deux patients greffés avec des anticorps préformés dirigés vers des molécules HLA-C ou DP. Le délai de survenue était généralement précoce avec une médiane à 3,15 mois (Q1-Q3 : 0,92-9,08). La probabilité de rejet à 1 an est de 29,5% IC95 [17,1-48] illustrée par la **Figure 4**.

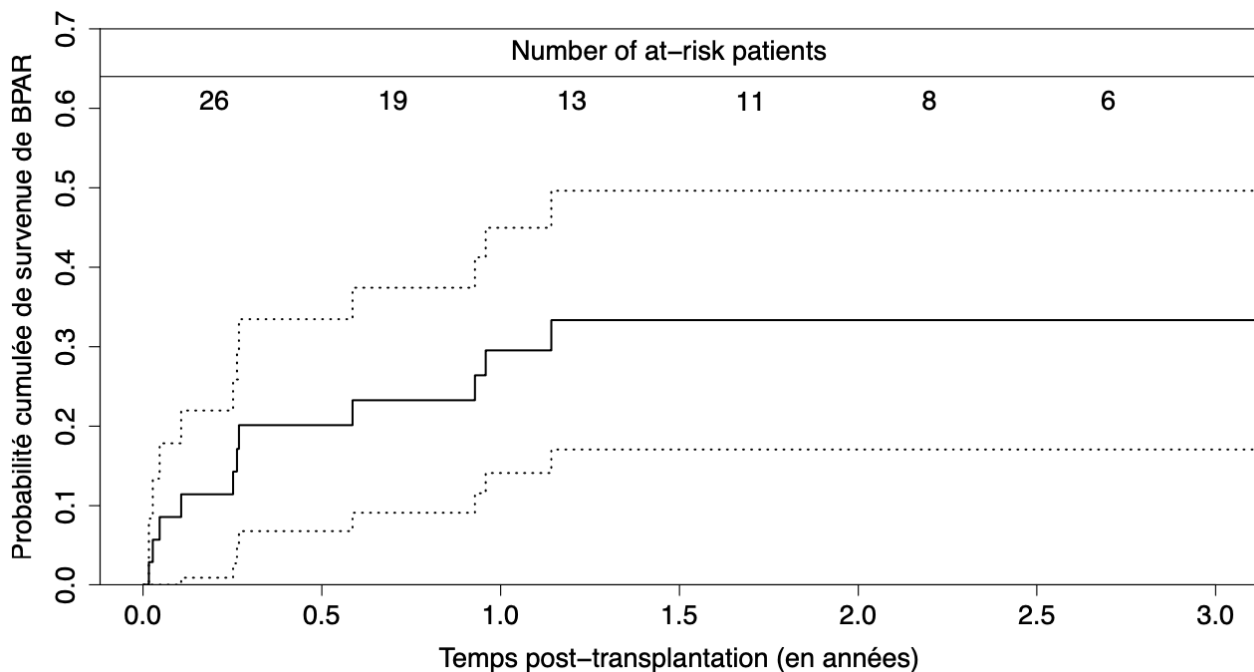


Figure 4. Courbe d'incidence cumulée de rejet parmi les patients greffés suite à une DNA (n initial= 35)
 Probabilité de rejet à 1 an 29,5% IC95 [17,1-48]
 Délai médian de rejet de 3,15 mois (Q1-Q3 : 0,92- 9,08)
 BPAR : Biopsy Proven Acute Rejection

En termes de facteurs de risque de rejets chez les patients greffés suite à la DNA, en analyse univariée, aucun critère n'a été mis en évidence sur notre cohorte, mis à part le sexe masculin qui serait un facteur de risque de rejet avec un HR à 6,69 IC95 [1,42-31,54] $p=0,02$ (**Tableau 4**). Durant le suivi, 3 patients ont présenté un rejet chronique humoral actifs dont un occasionnera la perte du greffon.

Facteurs de survenue de rejet	HR	IC95	p
Sexe receveur (homme)	6,69	1,42-31,54	0,02
Rang de greffe			
>2greffes	4,00	0,48-33,29	0,20
>3greffes ou plus	5,53	0,61-50,06	0,13
Nombre de transfusions pré-greffe	1,01	0,97-1,04	0,67
Nombre de grossesses pré-greffe	0,83	0,36-1,93	0,67
Immunsation classe I	0,79	0,23-2,69	0,70
Immunsation classe II	0,44	0,12-1,67	0,23
TGI receveur	0,87	0,93-1,06	0,83
Age donneur	1,03	0,98-1,07	0,24
Age receveur au jour de greffe	0,97	0,93-1,02	0,20
Sexe donneur (homme)	1,05	0,94-1,19	0,37
Ischémie Froide	1,07	0,95-1,15	0,36
Incompatibilité A, B, DR	0,93	0,62-1,39	0,71
Cause décès vasculaire du donneur	1,03	0,30-3,52	0,97
Greffon sous machine de perfusion	1,04	0,27-3,94	0,96
RFG	1,31	0,40-4,34	0,66
Temps en dialyse avant l'inscription	0,79	0,56-1,12	0,19
Délai entre DNA et greffe	1,00	1,00-1,00	0,96
Délai entre inscription et DNA	0,87	0,65-1,17	0,35
Somme des MFI	1,00	0,99-1,00	0,59
Nombre de spécificité anti-HLA	1,03	0,85-1,26	0,75
Pic DSA historique 3000-6000	0,71	0,07-6,87	0,77
Pic DSA historique >6000	1,43	0,37-5,55	0,61

Tableau 4. Facteurs de risque de rejet chez les patients greffés suite à une DNA

Pour la somme des MFI, le HR est pour 1000 points de MFI

Pour le nombre de spécificités anti-HLA, le HR est pour 10 spécificités

L'analyse de l'évolution des DSA chez les 10 patients qui ont présenté un RAH met en évidence 3 groupes :

- 4 patients dont une partie de leurs DSA préformés augmentent au moment du rejet (l'augmentation d'un DSA définie par une augmentation de plus de 1500 de MFI entre la valeur au moment de la greffe et la valeur au moment du rejet).
- 2 patients dont la totalité des DSA préformés augmentent au moment du rejet.
- 4 patients dont les DSA stagnent ou baissent après la greffe.

Un exemple représentatif de chaque groupe est illustré respectivement par les **Figures 5, 6 et 7.**

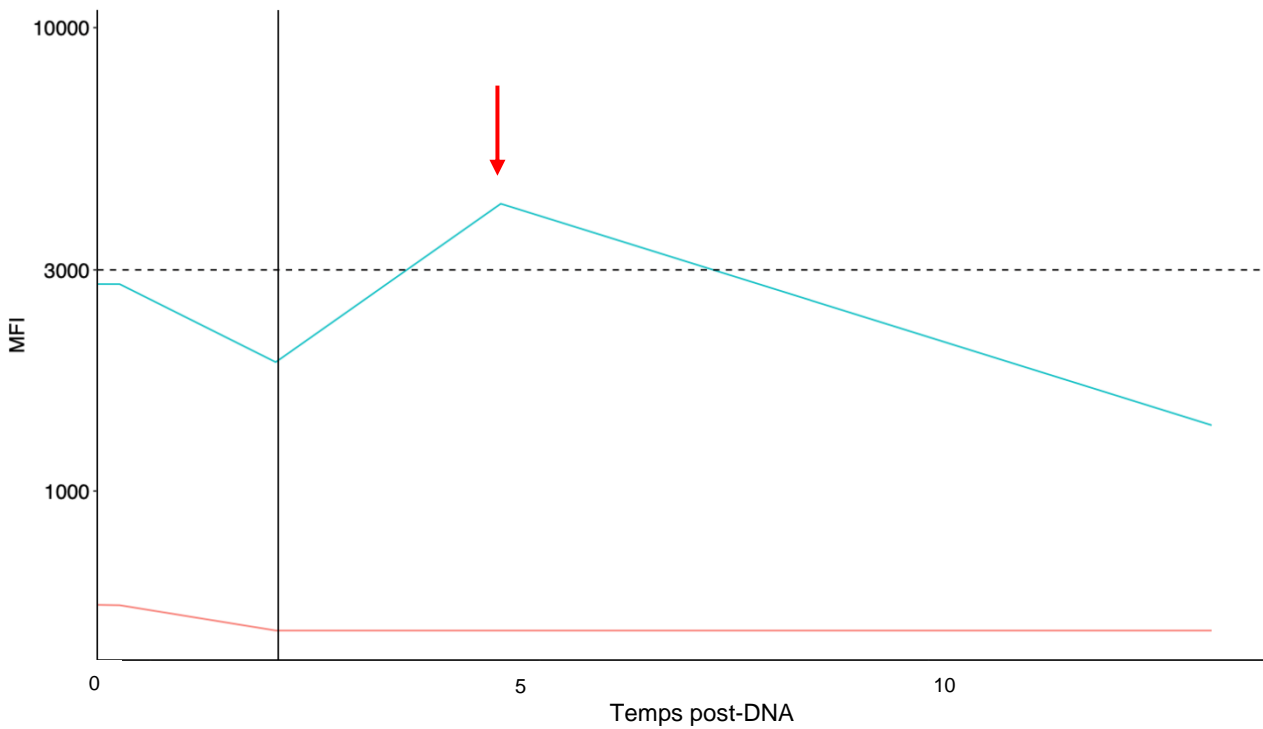


Figure 5. Évolution des DSA préformés dans le temps d'un patient à partir du jour de la DNA jusqu'au dernier suivi post greffe. Jour de greffe (barre verticale noire). Rejet (flèche rouge). Patient dont une partie des DSA préformés remontent au moment du rejet

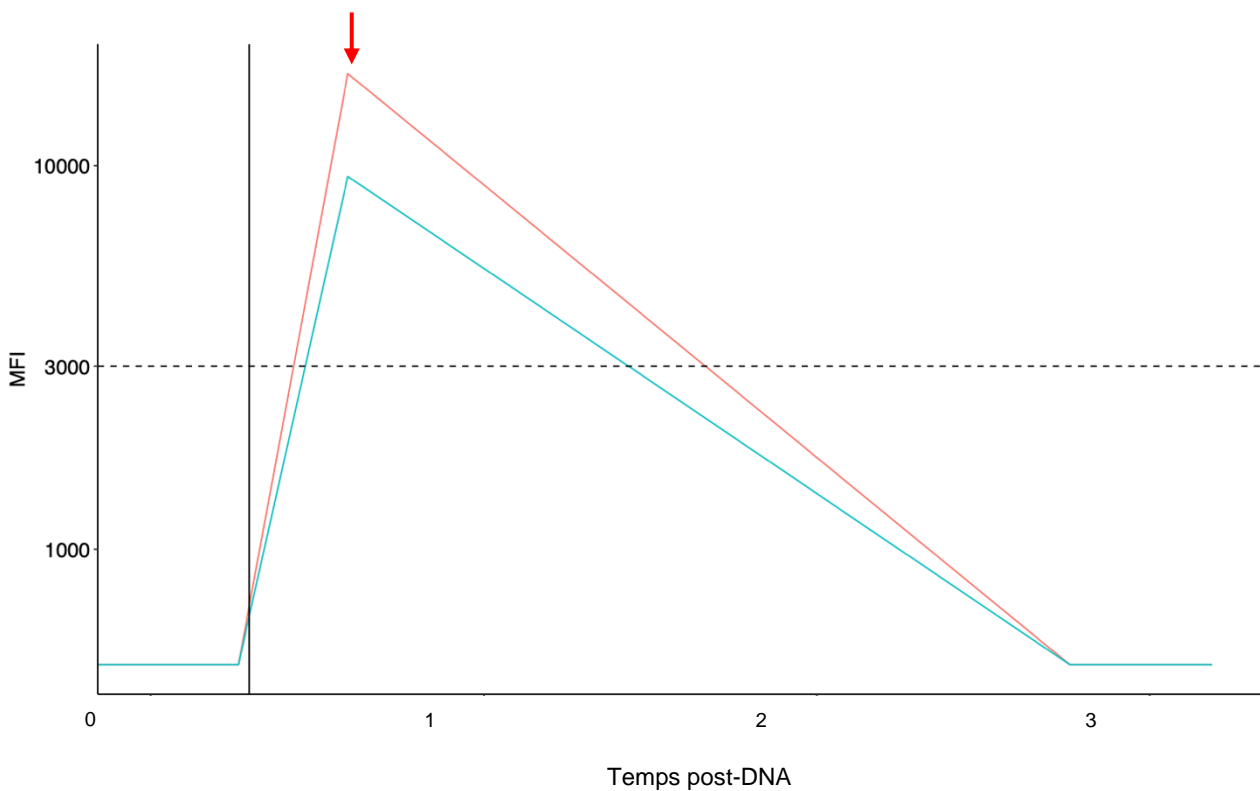


Figure 6. Évolution des DSA préformés dans le temps d'un patient à partir du jour de la DNA jusqu'au dernier suivi post greffe. Jour de greffe (barre verticale noire). Rejet (flèche rouge) Patient dont la totalité des DSA préformés remontent au moment du rejet

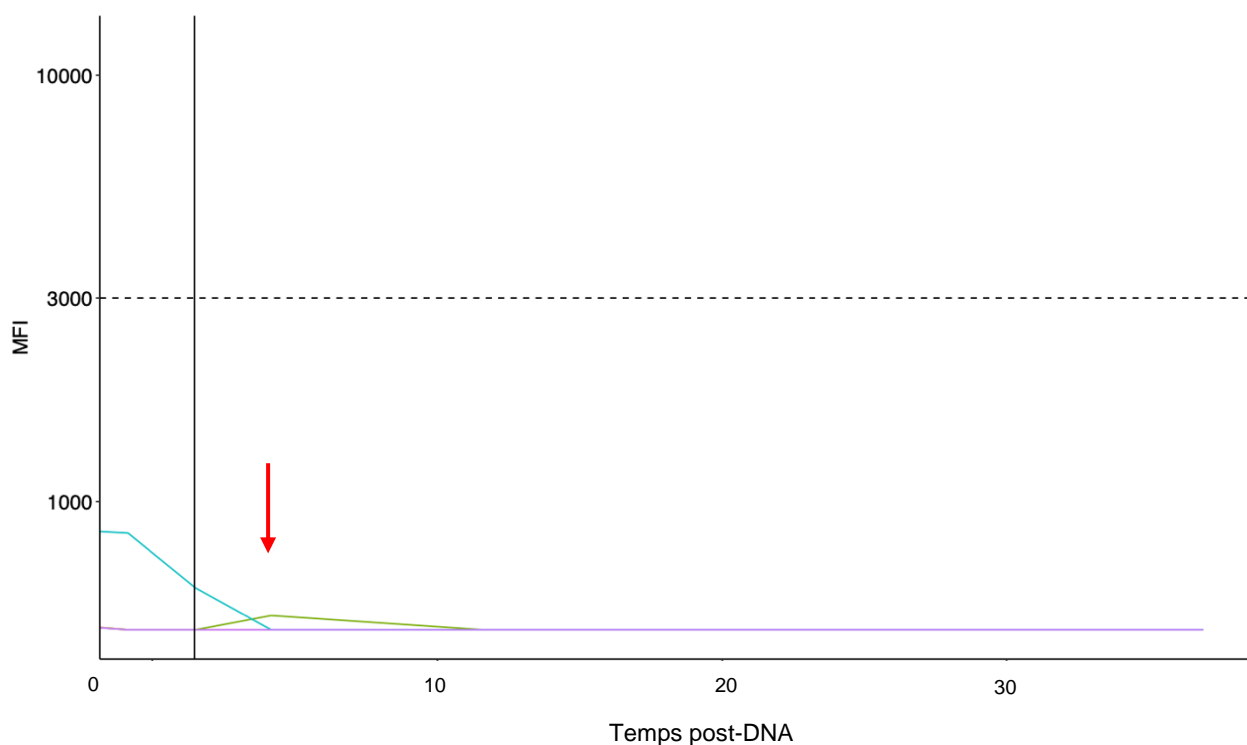


Figure 7. Évolution des DSA préformés dans le temps d'un patient à partir du jour de la DNA jusqu'au dernier suivi post greffe. Jour de greffe (barre verticale noire). Rejet (flèche rouge)
Patient dont les DSA préformés ne remontent pas au moment du rejet

5.5.4 Créatininémie et DFG des patients greffés

Nous avons pu suivre les fonctions rénales estimées des patients par le calcul du DFG selon la formule MDRD à partir de la créatininémie mesurée en consultation de suivi de jour au CHRU de Lille. Ces données ont pu être récoltées pour 29/35 patients car 5 perdent leurs greffons précocement durant leur première hospitalisation. Un patient a été greffé en fin d'année 2019 et n'a donc pas eu le suivi de créatininémie suffisant. Six cent trois valeurs de créatininémie au total étaient disponibles avec un nombre médian de 16 valeurs par patients (Min-Max : 1- 53). A 2 ans de greffe, sur les données de 14 patients on retrouve un DFG calculé médian d'environ 45mL/min/1,73m² (Q1-Q3 : 31-64) (**Figure 8**). De façon individuelle, les courbes d'évolutions dans le temps des DFG-calculés par patients sont représentées dans la **Figure 9**. Les chiffres de créatininémie exprimé en box-plot retrouve des créatininémies à 2 ans de greffe d'environ 18mg/L (Q1-Q3 : 12-23) sur 14 patients (**Figure 10**).

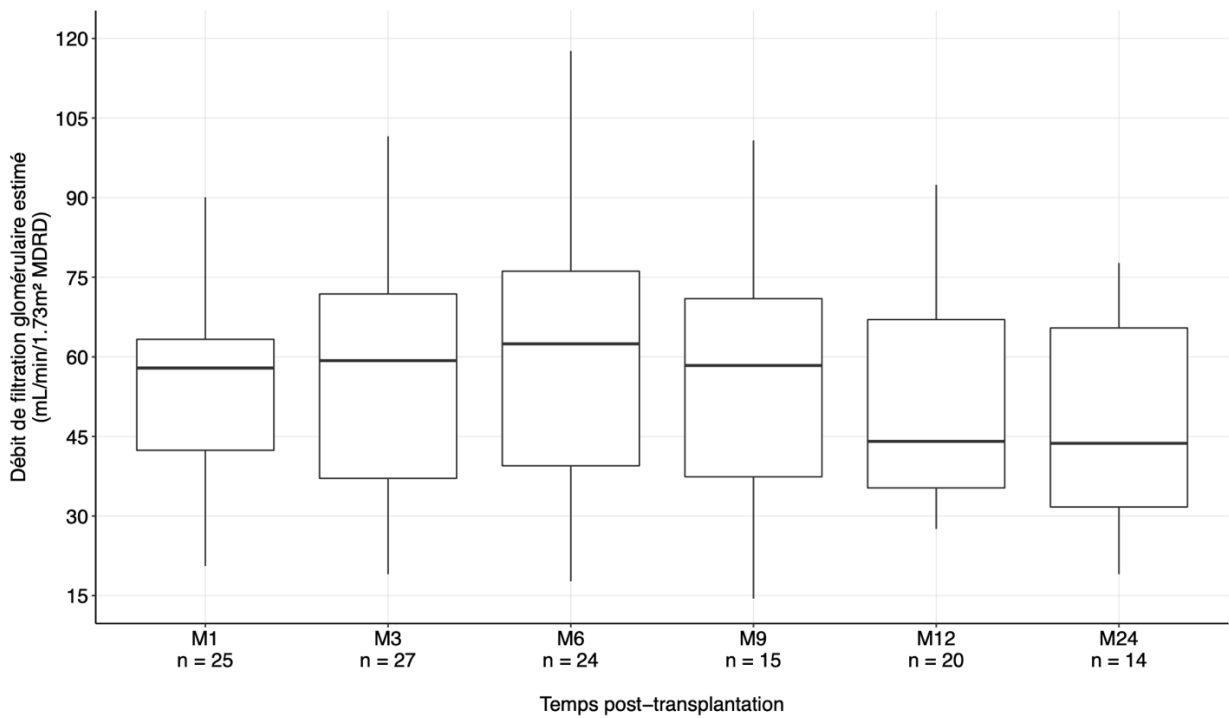


Figure 8. Box plot du DFG estimé par la formule MDRD, évolution dans le temps chez les patients greffés suite à une DNA (n initial= 29)

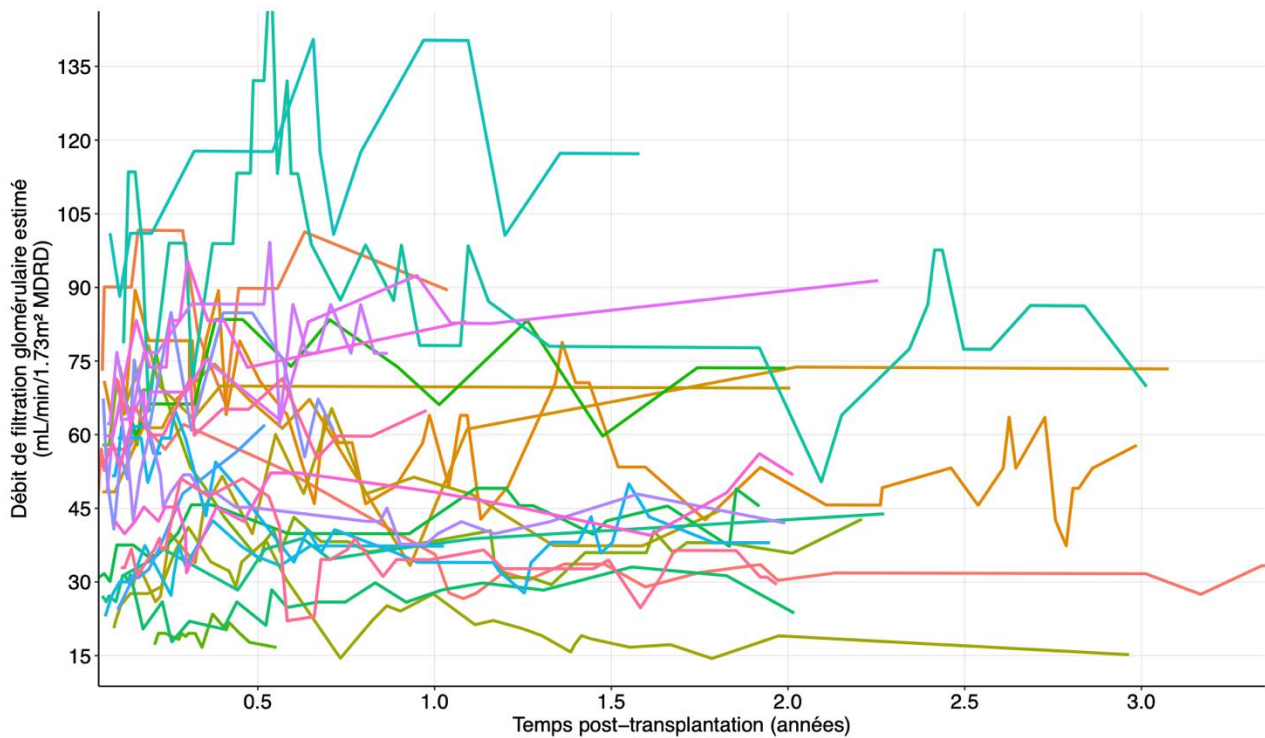


Figure 9. Courbes de suivi dans le temps du DFG estimé par formule MDRD pour les patients greffés suite à une DNA (n initial= 29).

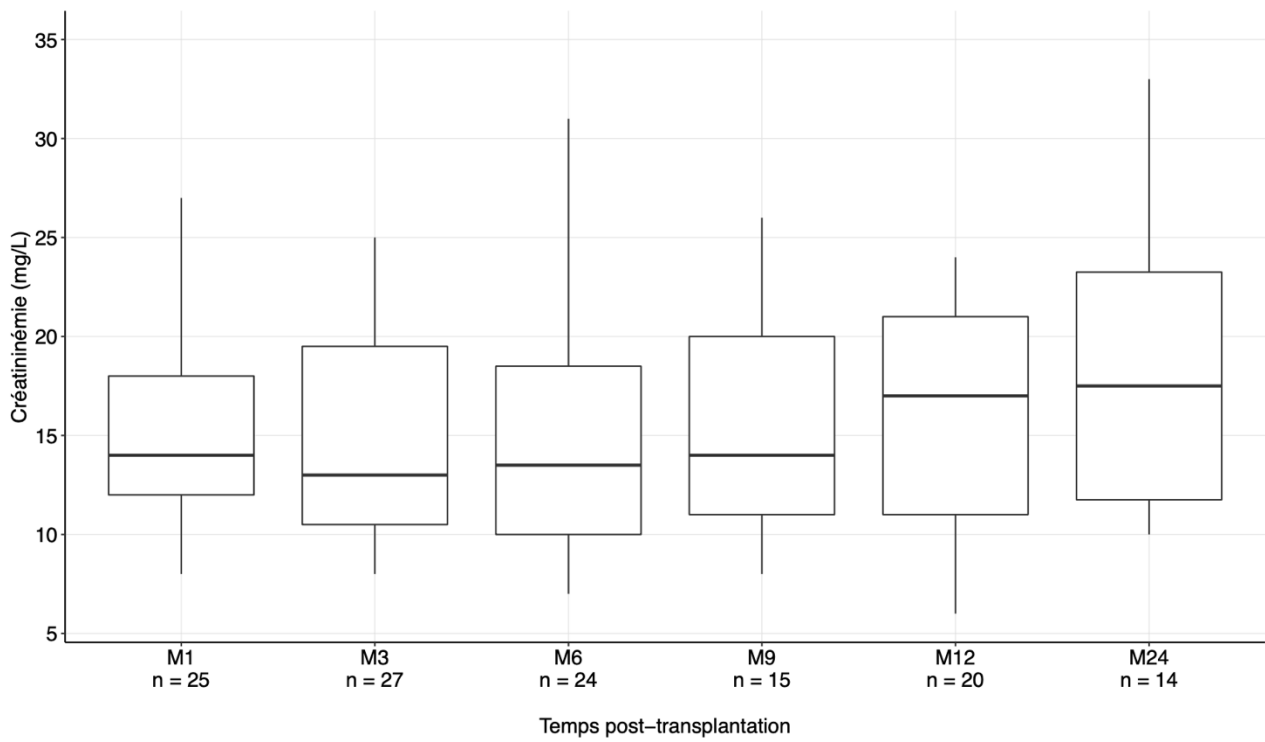


Figure 10. Box plot des créatininémies avec leur évolution dans le temps chez les patients greffés suite à une DNA (n initial= 29)

6 Discussion

6.1 Principaux résultats

6.1.1 *Caractéristiques de la population*

Dans notre étude nous observons une population jeune avec des caractéristiques démographiques similaires à la littérature (4).

L'origine de l'immunisation était pour 80% des patients, rapportée à des greffes rénales antérieures mais dont 15% des patients étaient immunisés par une ou des grossesses ET une ou des transplantations. Pour les 20% restant, l'immunisation est principalement rapportée à des grossesses. Sur les 11 patients sans greffe antérieure, 10 sont des femmes avec en moyenne 4 grossesses (min-max : 1-12). Le patient restant s'est immunisé suite à des transfusions itératives documentées. Ces données sont légèrement différentes en proportions aux modes d'immunisation déjà décrits chez les HI, avec dans notre cohorte une part plus large de patients immunisés suite à une transplantation antérieure (4,37). L'origine transfusionnelle a pu être sous-estimée par notre biais de recueil qui concernait uniquement les transfusions répertoriées au CHRU de Lille. L'immunisation via des allogreffes antérieures semble être en faveur d'une immunisation plus forte et plus durable pouvant expliquer une plus large proportion de ces patients dans notre étude (52–54).

Cinquante pour cent des patients ayant bénéficié d'une DNA ont eu une détransplantation, cette proportion ne change pas parmi les patients accédant à la greffe. Parmi les patients faisant un rejet, 9/11 soit 81% ont eu une détransplantation alors que 8/24 soit 33% des patients n'ayant pas fait de rejet durant leur suivi, ont eu une détransplantation. Ce constat corrobore l'hypothèse du potentiel immunogène de la détransplantation (55,56) (**Tableau 1**).

6.1.2 Efficacité de la DNA

Tout d'abord, nous observons une baisse de l'immunisation anti-HLA, reflétée par le TGI, avec un passage de 99% à 77% chez les patients greffés contre 100% chez les non greffés (**Tableau 1 et 2**). Ceci témoigne du phénomène de « désimmunisation naturelle » chez ces patients HI. De ce fait il existe une réelle augmentation de chances de bénéficier d'un greffon pour ces patients, vu la courbe exponentielle d'accès à la greffe selon le TGI (23). Pour comparaison, après protocoles de désimmunisation par IVIg et Rituximab 58% et 28% des patients ne baissent pas leur cPRA respectivement en classe I et II. Pour ceux dont le cPRA baissent les valeurs diminuent généralement de 1 à 10% 10 à 90 jours après le protocole de désimmunisation (33,57).

Les autres indicateurs d'efficacité immunologique sont une baisse du nombre d'anticorps anti-HLA par patient, et de la somme de leurs MFI après DNA parmi les greffés. Toutefois, le chiffre brut du nombre d'anticorps anti-HLA est à interpréter avec précaution car est surestimé vu l'analyse par typage moléculaire et non sérologique. La somme des MFI est aussi un chiffre à analyser selon son évolution et non sur sa valeur brute vu la variabilité de la techniques inter et intra-individuelle.

Lorsqu'on regarde le nombre de DSA, la somme des DSA et le pic du DSA historisé le plus haut, les mêmes tendances, à la baisse, sont retrouvées parmi les greffés. Par exemple, le nombre de DSA « bloquants » dans cristal en A, B, DR ou DQ qui a pu être soustrait de la base de données CRISTAL était d'environ 2,7 par patient greffé dont 1,9 en classe I et 0,8 en classe II. Dans un précédent travail réalisé au CHRU de Lille et Rouen portant sur la population d'HI ayant bénéficié de désimmunisation active, le nombre

médian de DSA soustrait/ patient était de 2,5 (58). Ceci est en faveur d'une désimmunisation semblable entre ces 2 populations.

Pour résumer, nous avons l'impression que la DNA a pu fonctionner chez 65% des patients. Chez ces patients, plusieurs marqueurs de baisse d'immunisation francs ont été retrouvés alors qu'ils ne sont pas retrouvés chez les patients non greffés.

6.1.3 Accès à la greffe

Comme dit ci-dessus, 65% (35/54) des patients ont bénéficié d'une greffe, avec un temps d'attente de 136 jours soit 4,5 mois après le début de la DNA. Avant cela, ils avaient attendu en moyenne 3,92 ans sur liste, ce qui souligne une accélération vis-à-vis de l'accessibilité à la greffe par la DNA, avec une diminution du temps d'attente pour une majorité des patients (**Tableau 1**). Pour exemple, la probabilité pour les patients HI d'être greffé à 2 ans est de 30% en France (21). Dans la cohorte de désimmunisation active Lillo-rouennaise le délai entre la désimmunisation et la greffe était de 51 jours soit 1,6 mois (58). Avec un protocole pré-greffe associant Rituximab et IVIg le délai médian de greffe avec donneur décédé était d'environ 4,2+/-4,5 mois (33), et de 2,5 mois lors d'un traitement par Rituximab, IVIg +/- EP (19).

Nous avons retrouvé comme seuls facteurs d'accessibilité à la greffe un âge plus jeune du receveur et un temps court entre l'inscription sur liste de greffe et le début de la DNA. Ceci peut s'expliquer par le fait que les patients qui attendent déjà depuis longtemps sur liste correspondent à des patients difficiles à « désimmuniser » et que la DNA ne représente pas un bénéfice supplémentaire en termes d'accès à la greffe. L'âge jeune est, plutôt, contraire à la littérature puisque la plupart des donneurs en France sont âgés. Cependant

ces résultats sont à interpréter avec beaucoup de précautions car ils ne sont pas ajustés et relèvent donc de nombreux biais de confusion. Autrement dit, ils risqueraient de n'être plus significatifs en cas d'analyse multivariée sur des plus grosses cohortes (**Tableau 3**).

En contrepartie, de cette accessibilité facilitée à la greffe par baisse du TGI, ces patients perdent leur priorité nationale associée à leur hyper-immunisation et notamment l'accès au programme HAP. Comme décrit en introduction, cette priorité est acquise par un TGI historique >85% ET un TGI au jour de greffe >70%. De plus, pour les patients avec un TGI >85%, il existe une dérogation des greffon O pour les receveurs B et les greffons A pour les receveurs AB ou encore les futurs receveurs qui ont un TGI > à 95% peuvent bénéficier de tout greffon venant d'un donneur compatible sans restriction. Ces priorités ne sont donc plus valables si le TGI du jour après DNA est en deçà de ces valeurs. Ces informations permettent peut-être de pondérer l'engouement suscité par la DNA, notamment pour des patients de groupe sanguins rares B ou AB. De plus la baisse du TGI juste en-dessous du seuil des 70% pourrait être discutée chez certains patients afin de garder cette priorité nationale. Afin de ne pas souffrir de la compétitivité des modes de facilitations d'accès à la greffe, une piste pourrait être, à l'instar des protocoles de désimmunisation active, d'obtenir un accord de l'Agence de Biomédecine pour permettre à ces patients de garder leur priorité HI le temps de la DNA.

6.1.4 Survie patient et survie greffon

Chez nos patients, nous avons observé 3 décès parmi les greffés durant la période de suivi médian de 2 ans post-greffe, deux décès était analysés parmi les patients non greffés, soit au total 5 patients sur 54 ou 9,2% de la population.

Les données sont semblables à une revue de 2011 sur les patients HI greffés grâce à divers protocoles de désimmunisation active par donneurs vivants ou décédés durant un suivi moyen de 23 mois qui retrouvait un taux de survie de 95% (43) ou de 94,5% sur une étude plus récente réalisée entre 2013 et 2016 avec un suivi médian de 2,9 ans (19). Globalement, en France, chez les patients greffés la survie patient est de 96,5% à 1 an et de 87,4% à 5 ans (21).

La DNA ne suppose aucune intervention mis à part un suivi biologique plus spécifique, les causes ne paraissent donc pas imputées à ce protocole mais plutôt au geste chirurgical de la greffe ou aux effets secondaires des immunosuppresseurs.

Concernant la survie greffon, celle-ci était de 82,2% à 1 an et se maintenait à 2 ans de suivi (**Figure 3**). Les pertes de greffon sont précoces (délai médian de 57 jours) avec finalement peu de causes d'origine immunologiques 3/7 (2 rejets et une non reprise de fonction du greffon). Dans une revue des 21 études s'intéressant aux protocoles de désimmunisation active entre 2000 et 2010, la survie greffon était de 86% à 23 mois (43). Plus récemment une cohorte parisienne d'HI greffés après désimmunisation active observait une survie greffon de 71,6% après un suivi médian de 6,7 ans (22). En comparaison il était observé 96,8% de survie greffon à 3 ans, parmi 103 patients HI, greffés après attente simple sur liste aux États-Unis (44).

6.1.5 Épisodes de rejet

Le rejet, est de mauvais pronostic pour la survie greffon (59). Dans notre population, c'est le RAH avec rebond des DSA préformés qui est le plus fréquent. En effet, on observe une majorité de RAH : 10/11 rejets parmi 35 patients soit 31,5% de rejet à 2 ans de suivi, ce qui paraît similaire aux protocoles de désimmunisation active.

Après désimmunisation active, le taux de rejet est trois fois plus important par rapport à la population générale greffée, d'environ 36% à deux ans de suivi (43,44,60). A Lille et Rouen, 5/5 des patients greffés grâce à la désimmunisation active avaient présentés un rejet aigu (58). Ce taux de rejet reste supérieur aux patients HI greffés grâce au programme d'appariement par antigènes permis. Selon la cohorte européenne ayant bénéficié du protocole *Acceptable MisMatch*, l'incidence de rejets chez ces patients est similaire aux patients peu immunisés (cPRA entre 0-5%) (29).

Parmi les 10 patients présentant un RAH, nous constatons une majorité de rebond de tous ou d'une partie des DSA préformés (6/10) (**Figure 5 et 6**). Néanmoins 4 patients présentent une stabilité voire même une diminution de leurs DSA préformés (**Figure 7**). Ce constat, étonnant au premier abord, fait possiblement appel à la notion d'anticorps non anti-HLA dirigés contre des antigènes d'histocompatibilité mineurs autrement appelés antigènes non-HLA. Ce concept s'est développé, notamment, après l'observation de RAH lors de greffes entre jumeaux HLA-identiques. Des variants protéiques des cellules endothéliales du donneur non exprimés par le receveur pourraient être des causes d'humoralité et secondairement de RAH (61).

Le sexe masculin du receveur apparaît comme un facteur de risque de rejet en analyse univariée (**Tableau 4**), cette donnée n'est pas retrouvée dans la littérature, et semble plutôt liée au faible effectif de notre cohorte. En effet, sur nos 11 rejets observés que deux se déclarent chez des patientes.

Le délai du rejet était précoce de 3,15 mois (**Figure 4**), il serait potentiellement intéressant de doser les anticorps anti-HLA plus précocement durant les 3 premiers mois et ce, afin de dépister au plus tôt un rebond des DSA et ainsi traiter plus précocement les rejets.

Par ailleurs, la valeur du pic du DSA historique a déjà été identifiée comme un facteur prédictif de rejet lorsqu'ils étaient entre 3000-6000 ou >6000 (16), mais nous n'avons pas relevé de résultat significatif dans notre cohorte. Ceci est potentiellement dû à un manque d'évènements et de puissance dû à l'effectif.

6.1.6 Fonction rénale

Quarante-huit pour cent des patients ont fait un RFG ce qui est relativement haut quand on compare aux greffes des patients non immunisés (**Tableau 2**). En France sur la période de 2014 à 2017, 26,9% des patients greffés par donneurs décédés non immunisés ont fait un RFG (21). Chez les patients HI mais sans protocole de désimmunisation, la proportion de RFG va de 20,4 à 32,7% (29). Ceci peut être expliqué par une augmentation de l'expression des molécules HLA par les cellules tubulo-interstitielles après effets pro-inflammatoires du système immunitaire inné secondaire aux phénomènes d'ischémie reperfusion. Ceci favoriserait une immunogénicité du receveur vis-à-vis du donneur et ainsi augmenterait le risque de RFG, avec un sur-risque chez les patients HI (62).

Le DFG calculé médian (MDRD) de nos patients à 2 ans était d'environ 45mL/min/1,73m², soit équivalent d'une insuffisance rénale chronique de stade III. Ceci est à nuancer par le faible effectif de patients analysable à 2 ans (n=14) (**Figure 8**).

La **Figure 9**, permet d'illustrer la variabilité des chiffres de DFG estimés durant la première année de greffe, puis, pour les greffons qui fonctionnent, une stabilité qui s'installe à des degrés différents. Ces résultats sont plutôt encourageants, car cohérents avec d'autres protocoles de désimmunisation active (51).

6.2 Forces de notre étude sur la DNA

A l'heure actuelle, très peu d'études sont publiées sur la DNA telle que décrite ci-dessus, et elle reste une pratique non uniformisée et non reconnue par l'Agence de Biomédecine à l'heure actuelle. Cependant, d'après nos résultats préliminaires elle pourrait être une alternative pour augmenter l'accès à la greffe chez certains patients jeunes et particulièrement immunisés qui attendent de façon prolongée sur liste. Le pronostic de greffe ne semble pas plus péjoratif que les protocoles de désimmunisation active déjà décrits.

L'intérêt supplémentaire est que ce type de désimmunisation n'est pas pourvoyeur d'effets secondaires (infectieux, oncogène) et ne nécessite aucune contrainte supplémentaire pour les patients, ce qui est un avantage non négligeable par rapport aux protocoles de désimmunisation active. Un stress psychologique et une asthénie profonde avait été relatés par les patients bénéficiant de protocoles de désimmunisation active à Lille et Rouen (58), ce qui est évité avec la DNA.

La mémoire lymphocytaire B est principalement liée aux LB mémoires et aux plasmocytes de longue durée de vie, qui permettent de mettre en place une production d'anticorps rapide et spécifique lors d'une seconde stimulation antigénique. Intégrer le phénomène de la DNA à la physiopathologie de la mémoire lymphocytaire B est un véritable défi. Une

première réponse pourrait être une variabilité de pathogénicité des anticorps, peut être en lien avec une histoire immunologique plus ou moins forte et répétée vis-à-vis de chaque antigène HLA qui différerait entre chaque patient. Une question intéressante serait d'essayer de différencier les DSA historiques « à risque » de rebond. Une option serait de mesurer dans notre cohorte les LB mémoires producteurs des DSA préformés avant greffe afin d'évaluer leur présence, leur nombre et leurs capacités à produire ces DSA (63).

6.3 Limites de notre étude

La principale limite reste le recueil rétrospectif monocentrique de ces patients avec un faible nombre de patients. Ceci implique un manque de puissance pour le calcul de facteurs de risque dans le temps par le modèle de Cox. Ainsi il n'a pas pu être identifié des facteurs de risque d'accessibilité à la greffe, ni de rejet.

Par ailleurs, la durée de suivi était relativement courte puisque le début du protocole a débuté en novembre 2015. Un suivi prolongé de cette cohorte serait nécessaire, notamment pour mieux appréhender la survie greffon et le rejet humoral chronique qui est bien reconnu dans la littérature comme de mauvais pronostic (64).

Pour la sélection de notre population, les critères de choix des patients pouvant participer ou non à la DNA étaient subjectifs et dépendaient de la décision coordonnée des immunologistes et néphrologues ; ceci peut induire un biais de représentativité de la population HI. De plus, cette pratique s'est développée à partir de 2015, et certains patients HI inscrits plusieurs années avant avaient déjà, peut-être, modifié leur profil immunologique. De la même manière, la date de sortie de liste de DNA était aussi sujette à une subjectivité de la part des immunologistes et des néphrologues avec donc un biais

sur l'accessibilité à la greffe puisque le temps en DNA était différent entre les patients, sans critère strict, a priori, de sortie de protocole de DNA.

6.4 Alternatives/ Perspectives

Après des résultats encourageants dans cette cohorte préliminaire, une première approche serait d'élargir la population d'étude à l'ensemble des patients HI qui ont bénéficié de ce protocole de DNA en France. Cela permettrait de passer outre un possible « effet centre », mais également d'identifier plus facilement des facteurs d'accessibilité à la greffe par la DNA, des facteurs de risque de rejet, et de perte de greffon, afin de cibler au mieux les patients éligibles à ce protocole.

Dans une deuxième approche, il serait intéressant de comparer le pronostic de greffe des patients ayant bénéficié de la DNA au pronostic de greffe des patients HI greffés à Lille après attente « classique » sur liste de greffe. Une possibilité serait même d'imaginer un essai contrôlé randomisé en double aveugle entre la DNA et l'attente « habituelle » sur liste de greffe.

Ultérieurement, en cas de résultats complémentaires favorables, on pourrait imaginer que ces patients en protocoles de DNA gardent leur priorité au niveau de l'Agence de Biomédecine afin de maximiser leurs chances de greffe.

La base de données de plus en plus florissante du logiciel HLA *Matchmaker* et la multiplication des études en faveur d'un effet négatif de la charge épitopique sur le pronostic de greffe, ouvrent une perspective notamment pour les patients HI. Une combinaison des protocoles de désimmunisation (active ou non active) avec l'utilisation du

logiciel HLA *Matchmaker* pourrait potentialiser l'appariement donneur/receveur et améliorer le pronostic de greffe (26).

Par ailleurs, une meilleure compréhension des facteurs d'immunogénicité (capacité à produire des anticorps), et d'antigénicité (basés sur l'interaction entre anticorps et antigène ; qui implique l'épitope immunogénique mais aussi les acides aminés autour tout aussi cruciaux pour permettre le contact entre les deux sites) permettrait, encore une fois, d'affiner les appariements. Ceci permettrait dès la première greffe de prolonger les durées de greffe, et d'optimiser l'immunosuppression. Mis à part HLA *Matchmaker*, l'hydrophobicité et la charge électrostatique des *ep/ets* sont aussi des pistes. Ainsi, un Hydrophobicity Mismatch Score et un Electrostatic Mismatch Score sont aussi à l'étude pour prédire la formation de DSA_{dn} selon le couple donneur/receveur (65).

Pour finir, d'autres thérapeutiques « actives » comme protocoles de désimmunisation sont à l'étude :

- L'IdeS est une endopeptidase provenant du *Streptococcus pyogenes* pouvant cliver les 4 classes d'IgG humaine ce qui inhibe leurs actions. Une étude de phase I-II a prouvé une clairance remarquable des anticorps anti-HLA 6h après l'injection. Cependant il était observé un rebond systématique des DSA entre J14 et M2 avec 36% de rejet à 4,7 mois de suivi (66). Une autre étude sur 7 patients ayant reçu l'IdeS avec du Rituximab et des IVIg en post greffe retrouve une survie greffon de 100% à 235 jours de suivi mais 3 RAH dont 1 hyperaigu à moins d'un mois. D'autres études sont donc nécessaires afin d'évaluer son efficacité en prégreffe chez les patients HI.

- Un traitement associant le C1inhibiteur ou un placebo avec un protocole par IVIg, EP et Rituximab sur 20 patients n'a pas montré de bénéfices supplémentaires dans le pronostic de greffe mais reste potentiellement à approfondir.
- Le Belimumab, anticorps anti-BLyS (B Cells Lymphocytes Stimulator : cytokine essentielle à l'activation des lymphocytes B) a déjà été testé contre placebo en essai de phase II avec une sécurité d'emploi. Il pourrait apparaître prochainement dans l'arsenal des thérapeutiques pré greffe pour les patients HI (67).
- Le Tocilizumab, anticorps humanisé anti-IL6, a été essayé chez 10 patients HI résistants à un traitement de désimmunisation par EP, IVIg et Rituximab. Cinq patients ont pu être transplantés grâce à l'adjonction de Tocilizumab. A 12 mois, 3 rejets ont été identifiés, la survie greffon était de 100%.
- Le Belatacept, est une protéine de fusion soluble constituée du domaine extracellulaire modifié du CTLA-4, empêchant la costimulation du CD80/86 avec le CD28 du Lymphocyte T. Une étude rétrospective a été réalisée chez des patients HI greffés sans DSA, avec ou sans Belatacept en post-greffe, en plus d'une immunosuppression similaire (Tacrolimus, Mycophénolate Mofetil, corticothérapie). Il était retrouvé une baisse du cPRA et des anticorps anti-HLA de classe I en nombre et en MFI. Ceci pouvant amener à essayer ce traitement comme protocole de désimmunisation en pré-greffe (68).
- De façon plus novatrice et expérimentale, l'induction de tolérance vis-à-vis du greffon comme un organe du « soi » est en cours de recherche. L'objectif ultime étant que les traitements immunosuppresseurs ne soient plus nécessaires pour ne pas rejeter le greffon. Deux options sont possibles : l'induction d'une tolérance centrale ou périphérique. La tolérance centrale peut être acquise via une « re-programmation » du système immunitaire par l'obtention d'un chimérisme total ou

mixte grâce à la greffe de cellules souche hématopoïétiques, du même donneur synchrone à la greffe rénale. En contrepartie, les patients sont exposés à un risque de *Graft versus Host Disease* notamment en cas de chimérisme total. Les stratégies actuelles sont multiples et restent encore à mettre au point avant le passage en clinique. Pour la tolérance périphérique, la principale piste de recherche est la thérapie cellulaire adoptive à partir des lymphocytes T régulateurs autologues, en les réinjectant en post greffe avec ou sans modification (8).

7 Conclusion

La DNA est une solution intéressante qui permettrait d'améliorer l'accès à la greffe chez les patients HI, voire représente la seule possibilité d'être greffé pour certains patients qui ne se voit pas proposer de greffons malgré des priorités accordées à leur statut.

Le pronostic de leurs greffes en termes de survie patient, survie greffon et de survenue de rejets paraît équivalent aux pronostics des patients qui bénéficient de protocoles de désimmunisation active.

Le caractère non invasif de ce protocole, l'absence d'effets indésirables de ce protocole en font un atout majeur pour ces patients, déjà fortement « médicalisés », par rapport aux protocoles de désimmunisation active.

En raison, tout de même, d'un tiers de rejets aigus précoces avec cette technique de désimmunisation, une surveillance plus rapprochée des anticorps anti-HLA durant les trois premiers mois de greffe pourrait peut-être permettre de traiter plus précocement des rejets afin d'améliorer la survie des greffons.

Une certaine partie de la population HI semble cependant ne pas pouvoir bénéficier de la DNA pour accéder à la greffe. D'autres études fondamentales et cliniques de plus grande ampleur seraient nécessaires afin de comprendre les facteurs entrant en jeu dans l'évolution des profils immunologiques individuels, les facteurs d'accessibilité à la greffe et les facteurs de bon pronostic de greffe. La comparaison du pronostic des patients greffés après attente sur liste sans protocole de désimmunisation aux patients bénéficiant de la DNA permettrait d'asseoir cette pratique.

8 Références

1. Purnell TS, Auguste P, Crews DC, Lamprea-Montealegre J, Olufade T, Greer R, et al. Comparison of Life Participation Activities Among Adults Treated by Hemodialysis, Peritoneal Dialysis, and Kidney Transplantation: A Systematic Review. *Am J Kidney Dis.* 2013 Nov;62(5):953–73.
2. Dew MA, Switzer GE, Goycoolea JM, Allen AS, DiMartini A, Kormos RL, et al. Does transplantation produce quality of life benefits?: A quantitative analysis of the literature. *Transplantation.* 1997 Nov;64(9):1261–73.
3. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Agodoa LYC, 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.* 1999 Dec 2;341(23):1725–30.
4. Redfield RR, Scalea JR, Zens TJ, Mandelbrot DA, Levenson G, Kaufman DB, et al. The mode of sensitization and its influence on allograft outcomes in highly sensitized kidney transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant.* 2016 Oct;31(10):1746–53.
5. Antoine C. Accès à la greffe pour les malades hyperimmunisés. *Courr Transplant.* 2012;12(2):79–87.
6. Villadangos JA. Presentation of antigens by MHC class II molecules: getting the most out of them. *Mol Immunol.* 2001 Sep;38(5):329–46.
7. Grommé M, Neefjes J. Antigen degradation or presentation by MHC class I molecules via classical and non-classical pathways. *Mol Immunol.* 2002 Oct;39(3–4):181–202.
8. Montgomery RA, Tatapudi VS, Leffell MS, Zachary AA. HLA in transplantation. *Nat Rev Nephrol.* 2018 Sep;14(9):558–70.
9. Agence de la biomédecine. Procédures d'application des règles de répartition et d'attribution des greffons prélevés sur personne décédée. 2013 Dec p. 21–51.
10. Locke JE, Zachary AA, Warren DS, Segev DL, Houp JA, Montgomery RA, et al. Proinflammatory Events Are Associated with Significant Increases in Breadth and Strength of HLA-Specific Antibody. *Am J Transplant.* 2009 Sep;9(9):2136–9.
11. Gibney EM, Cagle LR, Freed B, Warnell SE, Chan L, Wiseman AC. Detection of donor-specific antibodies using HLA-coated microspheres: another tool for kidney transplant risk stratification. *Nephrol Dial Transplant.* 2006 Sep 1;21(9):2625–9.
12. Wehmeier C, Hönger G, Cun H, Amico P, Hirt-Minkowski P, Georgalis A, et al. Donor Specificity but Not Broadness of Sensitization Is Associated With Antibody-Mediated Rejection and Graft Loss in Renal Allograft Recipients. *Am J Transplant.* 2017 Aug;17(8):2092–102.
13. Terasaki PI, Cai J. Humoral theory of transplantation: further evidence. *Curr Opin Immunol.* 2005 Oct;17(5):541–5.
14. Issa N, Cosio FG, Gloor JM, Sethi S, Dean PG, Moore SB, et al. Transplant Glomerulopathy: Risk and Prognosis Related to Anti-Human Leukocyte Antigen Class II Antibody Levels. *Transplantation.* 2008 Sep;86(5):681–5.
15. Malheiro J, Tafulo S, Dias L, Martins LS, Fonseca I, Beirão I, et al. Impact on mid-term

kidney graft outcomes of pretransplant anti-HLA antibodies detected by solid-phase assays: Do donor-specific antibodies tell the whole story? *Hum Immunol*. 2017 Sep;78(9):526–33.

16. Lefaucheur C, Loupy A, Hill GS, Andrade J, Nochy D, Antoine C, et al. Preexisting Donor-Specific HLA Antibodies Predict Outcome in Kidney Transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 2010 Aug;21(8):1398–406.

17. Everly MJ, Rebellato LM, Haisch CE, Ozawa M, Parker K, Briley KP, et al. Incidence and Impact of De Novo Donor-Specific Alloantibody in Primary Renal Allografts: *Transplant J*. 2013 Feb;95(3):410–7.

18. Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, Karpinski M, Ho J, Storsley LJ, et al. Evolution and Clinical Pathologic Correlations of De Novo Donor-Specific HLA Antibody Post Kidney Transplant: Clinical Pathologic Correlations of De Novo DSA. *Am J Transplant*. 2012 May;12(5):1157–67.

19. Vo AA, Aubert O, Haas M, Huang E, Zhang X, Choi J, et al. Clinical Relevance of Posttransplant DSAs in Patients Receiving Desensitization for HLA-incompatible Kidney Transplantation: *Transplantation*. 2019 Dec;103(12):2666–74.

20. Sicard A, Ducreux S, Rabeyrin M, Couzi L, McGregor B, Badet L, et al. Detection of C3d-Binding Donor-Specific Anti-HLA Antibodies at Diagnosis of Humoral Rejection Predicts Renal Graft Loss. *J Am Soc Nephrol*. 2015 Feb;26(2):457–67.

21. Agence de la biomédecine. Résumé activité greffe rénale de 2018. 2019.

22. Amrouche L, Aubert O, Suberbielle C, Rabant M, Van Huyen J-PD, Martinez F, et al. Long-term Outcomes of Kidney Transplantation in Patients With High Levels of Preformed DSA: The Necker High-Risk Transplant Program. *Transplantation*. 2017 Oct;101(10):2440–8.

23. Keith DS, Vranic GM. Approach to the Highly Sensitized Kidney Transplant Candidate. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2016 Apr 7;11(4):684–93.

24. Agence de la biomédecine. Recommandations sur le suivi immunologique des patients en attente de greffe d'organes ou greffés. 2010 Nov.

25. Lucas DP, Leffell MS, Zachary AA. Differences in Immunogenicity of HLA Antigens and the Impact of Cross-Reactivity on the Humoral Response: *Transplantation*. 2015 Jan;99(1):77–85.

26. Duquesnoy RJ. Are We Ready for Epitope-Based HLA Matching in Clinical Organ Transplantation?: *Transplantation*. 2017 Aug;101(8):1755–65.

27. Heidt S, Witvliet MD, Haasnoot GW, Claas FHJ. The 25th anniversary of the Eurotransplant Acceptable Mismatch program for highly sensitized patients. *Transpl Immunol*. 2015 Oct;33(2):51–7.

28. Heidt S, Haasnoot GW, van Rood JJ, Witvliet MD, Claas FHJ. Kidney allocation based on proven acceptable antigens results in superior graft survival in highly sensitized patients. *Kidney Int*. 2018 Feb;93(2):491–500.

29. Heidt S, Haasnoot GW, Witvliet MD, Linden-van Oevelen MJH, Kamburova EG, Wisse BW, et al. Allocation to highly sensitized patients based on acceptable mismatches results in low rejection rates comparable to nonsensitized patients. *Am J Transplant*. 2019 Oct;19(10):2926–33.

30. Sapir-Pichhadze R, Zhang X, Ferradji A, Madbouly A, Tinckam KJ, Gebel HM, et al. Epitopes as characterized by antibody-verified eplet mismatches determine risk of kidney

transplant loss. *Kidney Int.* 2020 Apr;97(4):778–85.

31. Jordan SC. Evaluation of Intravenous Immunoglobulin as an Agent to Lower Allosensitization and Improve Transplantation in Highly Sensitized Adult Patients with End-Stage Renal Disease: Report of the NIH IG02 Trial. *J Am Soc Nephrol.* 2004 Dec 1;15(12):3256–62.

32. Vo AA, Lukovsky M, Toyoda M, Wang J, Reinsmoen NL, Lai C-H, et al. Rituximab and Intravenous Immune Globulin for Desensitization during Renal Transplantation. *N Engl J Med.* 2008 Jul 17;359(3):242–51.

33. Vo AA, Peng A, Toyoda M, Kahwaji J, Cao K, Lai C-H, et al. Use of Intravenous Immune Globulin and Rituximab for Desensitization of Highly HLA-Sensitized Patients Awaiting Kidney Transplantation: Transplantation. 2010 May;89(9):1095–102.

34. Stegall MD, Diwan T, Raghavaiah S, Cornell LD, Burns J, Dean PG, et al. Terminal Complement Inhibition Decreases Antibody-Mediated Rejection in Sensitized Renal Transplant Recipients: Terminal Complement Inhibition Decreases Antibody-Mediated Rejection. *Am J Transplant.* 2011 Nov;11(11):2405–13.

35. Schinstock CA, Bentall AJ, Smith BH, Cornell LD, Everly M, Gandhi MJ, et al. Long-term outcomes of eculizumab-treated positive crossmatch recipients: Allograft survival, histologic findings, and natural history of the donor-specific antibodies. *Am J Transplant.* 2019 Jun;19(6):1671–83.

36. Marks WH, Mamode N, Montgomery RA, Stegall MD, Ratner LE, Cornell LD, et al. Safety and efficacy of eculizumab in the prevention of antibody-mediated rejection in living-donor kidney transplant recipients requiring desensitization therapy: A randomized trial. *Am J Transplant.* 2019 Oct;19(10):2876–88.

37. Orandi BJ, Luo X, Massie AB, Garonzik-Wang JM, Lonze BE, Ahmed R, et al. Survival Benefit with Kidney Transplants from HLA-Incompatible Live Donors. *N Engl J Med.* 2016 Mar 10;374(10):940–50.

38. Montgomery RA, Zachary AA. Transplanting patients with a positive donor-specific crossmatch: A single center's perspective. *Pediatr Transplant.* 2004 Dec;8(6):535–42.

39. Sonnenday CJ, Ratner LE, Zachary AA, Burdick JF, Samaniego MD, Kraus E, et al. Preemptive therapy with plasmapheresis/intravenous immunoglobulin allows successful live donor renal transplantation in patients with a positive cross-match. *Transplant Proc.* 2002 Aug;34(5):1614–6.

40. Jackson AM, Kraus ES, Orandi BJ, Segev DL, Montgomery RA, Zachary AA. A closer look at rituximab induction on HLA antibody rebound following HLA-incompatible kidney transplantation. *Kidney Int.* 2015 Feb;87(2):409–16.

41. Bartel G, Wahrmann M, Regele H, Kikić Ž, Fischer G, Druml W, et al. Peritransplant Immunoabsorption for Positive Crossmatch Deceased Donor Kidney Transplantation. *Am J Transplant.* 2010 Sep;10(9):2033–42.

42. Montgomery RA, Lonze BE, King KE, Kraus ES, Kucirka LM, Locke JE, et al. Desensitization in HLA-Incompatible Kidney Recipients and Survival. *N Engl J Med.* 2011 Jul 28;365(4):318–26.

43. Marfo K, Lu A, Ling M, Akalin E. Desensitization Protocols and Their Outcome. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011 Apr;6(4):922–36.

44. Jackson KR, Chen J, Kraus E, Desai N, Segev DL, Alachkar N. Outcomes of cPRA 100% deceased donor kidney transplant recipients under the new Kidney Allocation System: A single-center cohort study. *Am J Transplant*. 2020 May 22;ajt.15956.
45. Togninalli M, Yoneoka D, Kolios AGA, Borgwardt K, Nilsson J. Pretransplant Kinetics of Anti-HLA Antibodies in Patients on the Waiting List for Kidney Transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 2019 Nov;30(11):2262–74.
46. Delbos F, Le Bot S, Garandeu C, Malard S, Hourmant M, Cesbron A. Intérêt de la désensibilisation non-active des patients hyper-immunisés en attente de transplantation rénale. *Transfus Clin Biol*. 2019 Sep;26(3):S14.
47. Bachelet T, Visentin J, Guidicelli G, Merville P, Couzi L, Taupin J-L. Anti-HLA donor-specific antibodies are not created equally. Don't forget the flow.... *Transpl Int*. 2016 Apr;29(4):508–10.
48. Goeken NE, Clinical Affairs Committee. Outcome of renal transplantation following a positive cross-match with historical sera: The ASHI survey. *Hum Immunol*. 1985 Oct;14(2):77–85.
49. Cardella CJ, Nicholson MJ, Falk JA, Harding M, Cook GT. Successful renal transplantation in patients with T-cell reactivity to donor. *The Lancet*. 1982 Dec;320(8310):1240–3.
50. Marfo K, Ajaimy M, Colovai A, Kayler L, Greenstein S, Lubetzky M, et al. Pretransplant Immunologic Risk Assessment of Kidney Transplant Recipients With Donor-Specific Anti-Human Leukocyte Antigen Antibodies: Transplantation. 2014 Nov;98(10):1082–8.
51. Schinstock CA, Gandhi M, Cheungpasitporn W, Mitema D, Prieto M, Dean P, et al. Kidney Transplant With Low Levels of DSA or Low Positive B-Flow Crossmatch: An Underappreciated Option for Highly Sensitized Transplant Candidates. *Transplantation*. 2017 Oct;101(10):2429–39.
52. Lopes D, Barra T, Malheiro J, Tafulo S, Martins L, Almeida M, et al. Effect of Different Sensitization Events on HLA Alloimmunization in Kidney Transplantation Candidates. *Transplant Proc*. 2015 May;47(4):894–7.
53. Hyun J, Park KD, Yoo Y, Lee B, Han BY, Song EY, et al. Effects of Different Sensitization Events on HLA Alloimmunization in Solid Organ Transplantation Patients. *Transplant Proc*. 2012 Jan;44(1):222–5.
54. Akgul SU, Ciftci HS, Temurhan S, Caliskan Y, Bayraktar A, Tefik T, et al. Association Between HLA Antibodies and Different Sensitization Events in Renal Transplant Candidates. *Transplant Proc*. 2017 Apr;49(3):425–9.
55. Matignon M, Leibler C, Moranne O, Salomon L, Charron D, Lang P, et al. Anti-HLA sensitization after kidney allograft nephrectomy: changes one year post-surgery and beneficial effect of intravenous immunoglobulin. *Clin Transplant*. 2016 Jun;30(6):731–40.
56. Muramatsu M, Hyodo Y, Sheaff M, Gupta A, Ashman N, Aikawa A, et al. Impact of Allograft Nephrectomy on Second Renal Transplant Outcome. *Exp Clin Transplant Off J Middle East Soc Organ Transplant*. 2018 Jun;16(3):259–65.
57. Lobashevsky AL, Higgins NG, Rosner KM, Mujtaba MA, Goggins WC, Taber TE. Analysis of Anti-HLA Antibodies in Sensitized Kidney Transplant Candidates Subjected to Desensitization with Intravenous Immunoglobulin and Rituximab: *Transplant J*. 2013 Jul;96(2):182–90.

58. Van Triempont M. Désimmunisation HLA chez des patients hyperimmunisés en transplantation rénale: expérience de 2 centres français. [Lille]; 2017.
59. Lefaucheur C, Loupy A, Vernerey D, Duong-Van-Huyen J-P, Suberbielle C, Anglicheau D, et al. Antibody-mediated vascular rejection of kidney allografts: a population-based study. *The Lancet*. 2013 Jan;381(9863):313–9.
60. Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A, Vitko S, Nashan B, Gürkan A, et al. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med*. 2007 Dec 20;357(25):2562–75.
61. Reindl-Schwaighofer R, Heinzl A, Gualdoni GA, Mesnard L, Claas FHJ, Oberbauer R. Novel insights into non-HLA alloimmunity in kidney transplantation. *Transpl Int*. 2020 Jan;33(1):5–17.
62. Perico N, Cattaneo D, Sayegh MH, Remuzzi G. Delayed graft function in kidney transplantation. *The Lancet*. 2004 Nov;364(9447):1814–27.
63. Wehmeier C, Karahan GE, Heidt S. HLA-specific memory B-cell detection in kidney transplantation: Insights and future challenges. *Int J Immunogenet*. 2020 Jun;47(3):227–34.
64. Cosio FG, Gloor JM, Sethi S, Stegall MD. Transplant Glomerulopathy. *Am J Transplant*. 2008 Mar;8(3):492–6.
65. Kramer CSM, Roelen DL, Heidt S, Claas FHJ. Defining the immunogenicity and antigenicity of HLA epitopes is crucial for optimal epitope matching in clinical renal transplantation: KRAMER et al. *HLA*. 2017 Jul;90(1):5–16.
66. Jordan SC, Lorant T, Choi J, Kjellman C, Winstedt L, Bengtsson M, et al. IgG Endopeptidase in Highly Sensitized Patients Undergoing Transplantation. *N Engl J Med*. 2017 Aug 3;377(5):442–53.
67. Banham GD, Flint SM, Torpey N, Lyons PA, Shanahan DN, Gibson A, et al. Belimumab in kidney transplantation: an experimental medicine, randomised, placebo-controlled phase 2 trial. *The Lancet*. 2018 Jun;391(10140):2619–30.
68. Parsons RF, Zahid A, Bumb S, Decker H, Sullivan HC, Eun-Hyung Lee F, et al. The impact of belatacept on third-party alloantibodies in highly sensitized kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2020 Feb;20(2):573–81.

AUTEUR : Nom : PORTIER épouse MASSON

Prénom : Béatrice

Date de soutenance : 12 octobre 2020

Titre de la thèse : Désimmunisation HLA non active en transplantation rénale chez les patients hyper-immunisés à Lille

Thèse - Médecine - Lille 2020

Cadre de classement : *Néphrologie*

DES + spécialité : *Néphrologie*

Mots-clés : Désimmunisation anti-HLA, Hyper-immunisés, Transplantation rénale, anticorps anti-HLA.

Introduction : Des évènements tels que les allogreffes, grossesses et/ou transfusions sanguines entraînent une immunisation contre le système HLA chez les patients en attente d'une transplantation rénale. Or l'immunisation anti-HLA constitue une barrière majeure d'accès à la greffe. Pour y pallier, cette population hyperimmunisée (HI) bénéficie de protocoles de priorités nationales, voire de protocoles de désimmunisation active. De façon plus récente, la Désimmunisation non-active (DNA) consiste à suivre dans le temps et de façon rapprochée les anticorps anti-HLA des patients sur liste de greffe afin de soustraire les spécificités interdites lorsqu'elles passent en deçà de 3000 de MFI. L'objectif de ce travail a été de décrire les caractéristiques démographiques et immunologiques des patients bénéficiant de la DNA, l'efficacité de cette technique sur l'accès à la greffe et le pronostic de leurs greffes.

Méthodes : Il s'agit d'une étude observationnelle, rétrospective, monocentrique au CHRU de Lille, concernant tous les patients inclus en protocole de DNA de novembre 2015 au 31 décembre 2019.

Résultats : Cinquante-quatre patients HI ont été inclus en DNA dont 35 patients qui ont été greffés soit 64,8% de la cohorte. La probabilité de greffe à 1 an est de 54,4% IC95 [22,4-86,4]. Durant le suivi médian de 2 ans (Q1-Q3 : 1,15-2,35) des patients greffés, nous avons observé 3 décès. La survie greffon censurée pour le décès est de 82,2% IC95 [66,5-98] à 1 an. Onze rejets ont été observés dont 10 rejets aigus humoraux. Le DFG calculé médian à 1 an était d'environ 45mL/min/1,73m² (Q1-Q3 : 31-64). Aucun facteur d'accessibilité à la greffe ou de rejet après DNA n'a pu être mis en évidence.

Conclusion : La DNA est un moyen qui semble efficace pour faciliter l'accès à la greffe aux patients HI. Le pronostic de greffe paraît semblable aux protocoles de désimmunisation active. Le caractère non invasif et l'absence d'effets secondaires de ce protocole de DNA en sont les atouts majeurs. Des études complémentaires sur des plus grandes cohortes seraient nécessaires pour mieux évaluer le pronostic de greffe et les facteurs d'accès à la greffe parmi les patients bénéficiant de protocole de DNA.

Composition du Jury :

Président : Pr Marc HAZZAN

Assesseurs : Pr Myriam LABALETTE

Pr François-Xavier GLOWACKI

Dr Isabelle TOP-RAYMOND

Directeur de thèse : Dr Marine VAN TRIEMPONT

