

**THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 10 mai 2012
Par M. PARTHIOT Christophe**

**Allosensibilisation post-greffes
des patients diabétiques de type 1 ayant bénéficié
d'allogreffes d'îlots de Langerhans**

Membres du jury :

Président :

Professeur BROUSSEAU Thierry, Chef de service Pôle de Biologie Pathologie génétique, CHRU de Lille

Assesseur :

Mme ROGER Nadine, Immunologiste, CHRU de Lille

Membres extérieurs :

Professeur PATTOU François, Chef de service Chirurgie Générale et Endocrinienne, CHRU de Lille

Mme DUFOSSE Françoise, Immunologiste, CHRU de Lille

Mme RAVERDY Violeta, Attachée de recherche clinique, CHRU de Lille



Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE
CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64



Université Lille 2
Droit et Santé

Université Lille 2 – Droit et Santé

| | |
|----------------------|---|
| Président : | Professeur Christian SERGHERAERT |
| Vice-présidents : | Madame Stéphanie DAMAREY Professeur Marie-Hélène FOSSE-GOMEZ Professeur Régis MATRAN Professeur Salem KACET Professeur Paul FRIMAT Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE Professeur Patrick PELAYO Madame Claire DAVAL Madame Irène LAUTIER Monsieur Larbi AIT-HENNANI Monsieur Rémy PAMART |
| Secrétaire général : | Monsieur Pierre-Marie ROBERT |

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

| | |
|---|--|
| Doyen : | Professeur Luc DUBREUIL |
| Vice-Doyen, 1 ^{er} assesseur : | Professeur Damien CUNY |
| Assesseurs : | Mme Nadine ROGER Professeur Philippe CHAVATTE |
| Chef des services administratifs : | Monsieur André GENY |

Liste des Professeurs des Universités :

| Civ. | NOM | Prénom | Laboratoire |
|------|--------------|---------------|------------------------------------|
| M. | ALIOUAT | El Moukhtar | Parasitologie |
| Mme | AZAROUAL | Nathalie | Physique |
| M. | BAILLEUL | François | Pharmacognosie |
| M. | BERTHELOT | Pascal | Chimie Thérapeutique 1 |
| M. | CAZIN | Jean-Louis | Pharmacologie – Pharmacie clinique |
| M. | CHAVATTE | Philippe | Chimie Thérapeutique |
| M. | COURTECUISSÉ | Régis | Sciences végétales et fongiques |
| M. | CUNY | Damien | Sciences végétales et fongiques |
| Mlle | DELBAERE | Stéphanie | Physique |
| M. | DEPREZ | Benoît | Chimie Générale |
| Mme | DEPREZ | Rebecca | Chimie Générale |
| M. | DUPONT | Frédéric | Sciences végétales et fongiques |
| M. | DURIEZ | Patrick | Physiologie |
| M. | GARÇON | Guillaume | Toxicologie |
| Mlle | GAYOT | Anne | Pharmacotechnie Industrielle |
| M. | GESQUIERE | Jean-Claude | Chimie Organique |
| M. | GOOSSENS | Jean François | Chimie Analytique |
| Mme | GRAS | Hélène | Chimie Thérapeutique 3 |
| M. | LEMDANI | Mohamed | Biomathématiques |
| Mme | LESTAVEL | Sophie | Biologie Cellulaire |
| M. | LUC | Gerald | Physiologie |

| | | | |
|------|--------------------|-----------------|-------------------------------------|
| Mme | MELNYK | Patricia | Chimie Générale |
| Mme | MUHR – TAILLEUX | Anne | Biochimie |
| Mme | PAUMELLE-LESTRELIN | Réjane | Biologie Cellulaire |
| Mme | PERROY – MAILLOLS | Anne Catherine | Droit et déontologie pharmaceutique |
| Mlle | ROMOND | Marie Bénédicte | Bactériologie |
| Mme | SAHPAZ | Sevser | Pharmacognosie |
| M. | SIEPMANN | Juergen | Pharmacotechnie Industrielle |
| M. | STAELS | Bart | Biologie Cellulaire |
| M | TARTAR | André | Chimie Organique |
| M. | VACCHER | Claude | Chimie Analytique |
| M. | VION | Daniel | Droit et déontologie pharmaceutique |

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

| Civ. | NOM | Prénom | Laboratoire |
|------|------------|-----------|--------------------------------------|
| M. | BROUSSEAU | Thierry | Biochimie |
| M | BRUNET | Claude | Pharmacologie |
| Mme | CAPRON | Monique | Immunologie |
| M. | DINE | Thierry | Pharmacie clinique |
| M. | DUBREUIL | Luc | Bactériologie et Virologie Cliniques |
| M. | DUTHILLEUL | Patrick | Hématologie |
| M. | GAMOT | André | Chimie Analytique |
| M. | GRESSIER | Bernard | Pharmacologie |
| M. | LHERMITTE | Michel | Toxicologie |
| M. | LUYCKX | Michel | Pharmacie clinique |
| M. | ODOU | Pascal | Pharmacie Galénique |
| M. | DEPREUX | Patrick | Chimie Organique (ICPAL) |
| M. | BONTE | Jean-Paul | Chimie Analytique et (ICPAL) |

Liste des Maitres de Conférences

| Civ. | NOM | Prénom | Laboratoire |
|------|-------------|--------------|------------------------------|
| Mme | AGOURIDAS | Laurence | Chimie Générale |
| Mme | ALIOUAT | Cécile Marie | Parasitologie |
| Mme | AUMERCIER | Pierrette | Biochimie |
| Mme | BANTUBUNGI | Kadiombo | Biologie cellulaire |
| Mme | BARTHELEMY | Christine | Pharmacie Galénique |
| M. | BEGHYN | Terence | Chimie Thérapeutique 3 |
| Mme | BEHRA | Josette | Bactériologie |
| M. | BERTHET | Jérôme | Physique |
| M. | BERTIN | Benjamin | Immunologie |
| M. | BLANCHEMAIN | Nicolas | Pharmacotechnie industrielle |
| M. | BOCHU | Christophe | Physique |
| M. | BOUTILLON | Christophe | Chimie Organique |
| M. | BRIAND | Olivier | Biochimie |
| Mme | CACHERA | Claude | Biochimie |
| M. | CARATO | Pascal | Chimie Thérapeutique 2 |
| M. | CARNOY | Christophe | Immunologie |
| Mme | CARON | Sandrine | Biologie cellulaire |
| Mlle | CHABÉ | Magali | Parasitologie |
| Mlle | CHARTON | Julie | Chimie Organique |
| M | CHEVALIER | Dany | Toxicologie |
| M. | COCHELARD | Dominique | Biomathématiques |
| Mlle | DANEL | Cécile | Chimie Analytique |
| Mme | DEMANCHE | Christine | Parasitologie |

| | | | |
|-------|---------------|------------------|-------------------------------------|
| Mlle | DEMARQUILLY | Catherine | Biomathématiques |
| Melle | DUMONT | Julie | Biologie cellulaire |
| M. | FARCE | Amaury | Chimie Thérapeutique 2 |
| Mlle | FLAMENT | Marie-Pierre | Pharmacotechnie Industrielle |
| Mlle | FLIPO | Marion | Chimie Organique |
| Mme | FOULON | Catherine | Chimie Analytique |
| Melle | GARAT | Anne | Toxicologie |
| M. | GELEZ | Philippe | Biomathématiques |
| M. | GERVOIS | Philippe | Biochimie |
| Mme | GOFFARD | Anne | Virologie |
| Mme | GRAVE | Béatrice | Toxicologie |
| Mme | GROSS | Barbara | Biochimie |
| Mme | HANNOTHIAUX | Marie-Hélène | Toxicologie |
| Mme | HELLEBOID | Audrey | Physiologie |
| M. | HENNEBELLE | Thierry | Pharmacognosie |
| M. | HERMANN | Emmanuel | Immunologie |
| M. | KAMBIA | Kpakpaga Nicolas | Pharmacologie |
| M. | KARROUT | Youness | Pharmacotechnie Industrielle |
| Mlle | LALLOYER | Fanny | Biochimie |
| M. | LEBEGUE | Nicolas | Chimie thérapeutique 1 |
| Mme | LIPKA | Emmanuelle | Chimie Analytique |
| Mme | LORIN-LECOEUR | Marie | Chimie Analytique |
| Mme | MARTIN | Françoise | Physiologie |
| M. | MOREAU | Pierre Arthur | Sciences végétales et fongiques |
| Melle | MUSCHERT | Susanne | Pharmacotechnie industrielle |
| Mme | NEUT | Christel | Bactériologie |
| Mme | PINÇON | Claire | Biomathématiques |
| M. | PIVA | Frank | Pharmacie Galénique |
| Mme | POMMERY | Nicole | Toxicologie |
| M. | RAVAUX | Pierre | Biomathématiques |
| Melle | RIVIERE | Céline | Pharmacognosie |
| Mme | ROGER | Nadine | Immunologie |
| M. | ROUMY | Vincent | Pharmacognosie |
| M. | SERGHERAERT | Eric | Droit et déontologie pharmaceutique |
| Mme | SIEPMANN | Florence | Pharmacotechnie Industrielle |
| Mlle | SINGER | Elisabeth | Bactériologie |
| M. | TAGZIRT | Madjid | Hématologie |
| Mme | THUILLIER | Pascale | Hématologie |
| Mme | VANHOUTTE | Geneviève | Biochimie |
| Mme | VITSE | Annie | Parasitologie |
| M. | WILLAND | Nicolas | Chimie organique |
| M. | YOUS | Saïd | Chimie Thérapeutique 1 |
| M. | FURMAN | Christophe | Pharmacobiochimie (ICPAL) |
| Mme | GOOSSENS | Laurence | Chimie Organique (ICPAL) |
| M. | MILLET | Régis | Chimie Thérapeutique (ICPAL) |

Liste des Maitres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

| Civ. | NOM | Prénom | Laboratoire |
|------|----------|-----------------|--------------------|
| Mme | ALLORGE | Delphine | Toxicologie |
| Mme | BALDUYCK | Malika | Biochimie |
| M. | DECAUDIN | Bertrand | Pharmacie Clinique |
| Mme | ODOU | Marie Françoise | Bactériologie |

Professeurs Agrégés

| Civ. | NOM | Prénom | Laboratoire |
|------|------------|---------|-------------------------------------|
| Mme | MAYES | Martine | Anglais |
| M. | MORGENROTH | Thomas | Droit et déontologie pharmaceutique |

Professeurs Certifiés

| Civ. | NOM | Prénom | Laboratoire |
|------|----------|-----------|-------------|
| M. | HUGES | Dominique | Anglais |
| Mlle | FAUQUANT | Soline | Anglais |
| M. | OSTYN | Gaël | Anglais |

Professeur Associé - mi-temps

| Civ. | NOM | Prénom | Laboratoire |
|------|--------|--------|-------------------------------------|
| M. | ABADIE | Eric | Droit et déontologie pharmaceutique |

Maîtres de Conférences Associés - mi-temps

| Civ. | NOM | Prénom | Laboratoire |
|------|----------|-----------|--|
| Mme | BERTOUX | Elisabeth | Pharmacie Clinique - Biomathématiques |
| M. | CREN | Yves | Information Médicale - Biomathématiques |
| M. | FIEVET | Pierre | Information Médicale |
| M. | FRIMAT | Bruno | Pharmacie Clinique |
| M. | MASCAUT | Daniel | Pharmacie Clinique |
| M. | WATRELOS | Michel | Droit et déontologie pharmaceutique |
| M. | ZANETTI | Sébastien | Biomathématiques - Pharmacie virtuelle |

AHU

| Civ. | NOM | Prénom | Laboratoire |
|------|--------|---------|---------------------|
| M. | LANNOY | Damien | Pharmacie Galénique |
| M. | SIMON | Nicolas | Pharmacie Galénique |



Université Lille 2
Droit et Santé

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Remerciements

Mes remerciements s'adressent aux différents membres du jury, aux personnes m'ayant accompagné dans ce travail, et à mes proches...

Au Professeur Thierry Brousseau,

Qui a accepté de présider cette thèse, et en souvenir des cours appréciés durant les premières années de faculté...

A Mme Nadine Roger,

Qui m'a guidé à un moment important, et qui a participé aux enseignements complexes d'Immunologie...

Au Professeur François Pattou,

Qui a accepté d'être mon tuteur de thèse, et qui m'a fait découvrir durant trois mois la Chirurgie.

A Mme Françoise Dufossé,

Pour les études réalisées sur les différents sérums, travail indispensable pour cette recherche, et sa disponibilité par la suite...

A Mme Violeta Raverdy

Pour ses conseils, son aide et sa gentillesse, au cours du travail de recherche et de rédaction...

A Mme Julie Kerr-Conte

Qui au cours d'un enseignement m'a fait découvrir la thérapie cellulaire du diabète, et qui a toujours été disponible depuis...

A Mr Benoît Audry

Qui, par son travail à l'Agence de Biomédecine sur les données envoyées, a grandement participé à l'obtention et à l'analyse des résultats de l'étude...

A mes différents maîtres de stage,

Qui m'ont appris entre autres la pratique de la profession pharmaceutique, et qui m'ont permis de progresser à leur côté...

A mes parents, mes amis, et Charlotte,

Pour leur patience et leur soutien permanent...

Table des matières

| | |
|---|-----------|
| 1 Introduction | 13 |
| 2 Le diabète | 14 |
| 2.1 Le diabète : notions fondamentales | 14 |
| 2.1.1 La glycémie (aspect biologie)..... | 14 |
| 2.1.2 La régulation de la glycémie | 14 |
| 2.1.2.1 Le foie | 14 |
| 2.1.2.2 Le pancréas | 14 |
| 2.1.2.3 Le rein | 15 |
| 2.1.2.4 L'adrénaline (système nerveux)..... | 15 |
| 2.1.3 Les pathologies..... | 15 |
| 2.1.3.1 Diabète de type 1 ou insulinodépendant (DID) | 15 |
| 2.1.3.2 Diabète de type 2 ou non insulinodépendant (DNID) | 16 |
| 2.2 Complications..... | 18 |
| 2.2.1 Complications aiguës | 18 |
| 2.2.1.1 Coma acidocétosique..... | 18 |
| 2.2.1.2 Coma hyperosmolaire | 18 |
| 2.2.1.3 Coma hypoglycémique | 18 |
| 2.2.2 Complications chroniques | 18 |
| 2.2.2.1 Microangiopathies et macroangiopathies | 18 |
| 2.2.2.2 Neuropathies..... | 19 |
| 2.2.2.3 Infections..... | 19 |
| 2.3 Traitement du diabète de type 1 par l'insuline..... | 19 |
| 2.3.1 Découverte | 19 |
| 2.3.2 Structure | 20 |
| 2.3.3 Biosynthèse | 21 |
| 2.3.4 Action..... | 22 |
| 2.3.5 Classification..... | 22 |
| 2.3.6 Conduite du traitement..... | 23 |
| 3 La thérapie cellulaire | 24 |
| 3.1 Comment y est-on arrivé ?..... | 24 |
| 3.2 La thérapie cellulaire du diabète en quelques mots..... | 27 |
| 3.3 L'historique de la méthode | 28 |
| 3.4 Les problèmes rencontrés | 28 |
| 3.4.1 La réaction inflammatoire..... | 28 |
| 3.4.2 Le rejet immunitaire | 28 |
| 3.4.3 Le nombre de greffons | 28 |
| 3.5 La préparation des îlots | 29 |
| 3.5.1 Contrôle Qualité | 29 |
| 3.5.2 Distension - dissection | 29 |
| 3.5.3 Digestion..... | 30 |
| 3.5.4 Purification et lavages | 30 |
| 3.5.5 Comptage et mise en culture | 30 |
| 4 Aspect immunologique de la greffe | 31 |
| 4.1 Définitions | 31 |
| 4.2 HLA | 31 |
| 4.2.1 Présentation..... | 31 |
| 4.2.2 Bases du polymorphisme..... | 31 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 4.2.3 | Transmission génétique | 32 |
| 4.2.4 | Nomenclature | 33 |
| 4.2.5 | Les différentes molécules du CMH | 33 |
| 4.2.5.1 | Molécules de classe I | 33 |
| 4.2.5.2 | Molécules de classe II | 34 |
| 4.2.6 | Fonctions du CMH | 34 |
| 4.2.6.1 | Présentation | 34 |
| 4.2.6.2 | Education thymique | 35 |
| 4.2.6.3 | Greffe et transplantation, complications dues au HLA | 35 |
| 4.3 | Le rejet de greffe | 36 |
| 4.3.1 | Rejet aigu | 36 |
| 4.3.2 | Rejet chronique | 36 |
| 4.4 | Réalisation du typage HLA | 36 |
| 4.4.1 | Typage sérologique | 37 |
| 4.4.2 | Typage par biologie moléculaire | 38 |
| 4.4.2.1 | PCR-SSP | 38 |
| 4.4.2.2 | PCR-SSO | 39 |
| 4.4.2.3 | PCR-SBT (sequence based typing) | 39 |
| 4.5 | Détection des anticorps anti-HLA | 39 |
| 5 | Dernière étude de l'équipe lilloise | 41 |
| 5.1 | Méthodologie | 41 |
| 5.1.1 | Sélection des patients | 41 |
| 5.1.1.1 | Critères d'inclusion | 41 |
| 5.1.1.2 | Critères d'exclusion | 41 |
| 5.1.1.3 | Mise sur liste d'attente | 42 |
| 5.1.2 | Le bilan pré-inclusion | 42 |
| 5.1.3 | Le jour de la greffe | 43 |
| 5.1.4 | Surveillance | 43 |
| 5.1.5 | Les traitements | 45 |
| 5.1.5.1 | Le traitement immunosuppresseur | 45 |
| 5.1.5.2 | Traitement antibactérien et anti viral | 48 |
| 5.1.5.3 | Traitement adjuvant | 50 |
| 5.2 | Résultats | 51 |
| 5.2.1 | Critères d'évaluation | 51 |
| 5.2.2 | Résultats | 51 |
| 5.2.3 | Contestation | 51 |
| 6 | Accessibilité à la greffe de rein des patients greffés d'îlots | 53 |
| 6.1 | Préambule sur l'allocation d'un greffon | 53 |
| 6.2 | Règles d'allocation des greffons rénaux | 54 |
| 6.2.1 | Calcul du score d'allocation | 54 |
| 6.2.1.1 | Les composantes | 54 |
| 6.2.1.2 | Les incréments | 55 |
| 6.3 | Plate-forme de simulation | 55 |
| 6.4 | Données des patients | 57 |
| 6.4.1 | Patient numéro 1 | 57 |
| 6.4.2 | Patient numéro 2 | 58 |
| 6.4.3 | Patient numéro 3 | 59 |
| 6.4.4 | Patient numéro 4 | 60 |
| 6.4.5 | Patient numéro 5 | 61 |
| 6.4.6 | Patient numéro 6 | 62 |
| 6.4.7 | Patient numéro 7 | 63 |
| 6.4.8 | Patient numéro 8 | 64 |
| 6.4.9 | Patient numéro 9 | 65 |
| 6.4.10 | Patient numéro 10 | 66 |
| 6.4.11 | Patient numéro 11 | 66 |
| 6.4.12 | Patient numéro 12 | 67 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 6.4.13 | Patient numéro 13..... | 68 |
| 6.4.14 | Patient numéro 14..... | 70 |
| 6.5 | Résultats et interprétation..... | 70 |
| 6.5.1 | Facteur d'accessibilité aux greffes FAG | 71 |
| 6.5.2 | Taux de greffons incompatibles TGI..... | 72 |
| 6.5.3 | Composante FAG | 74 |
| 6.5.4 | Accès à la greffe et durée d'attente..... | 75 |
| 6.5.5 | Apparitions dans le TOP 10 | 77 |
| 7 | Discussion - Conclusion | 79 |
| 8 | Bibliographie | 81 |

Liste des abréviations

| | |
|-------------|--|
| ABM | Agence de BioMédecine |
| AVC | Accident Vasculaire Cérébral |
| CDC | Cytotoxicité dépendante du complément |
| CMH | Complexe Majeur d'Histocompatibilité |
| CMV | Cytomégalovirus |
| Da | Dalton |
| DA | Durée d'Attente |
| DID | Diabète Insulino-Dépendant |
| DNID | Diabète Non Insulino-Dépendant |
| EBV | Eptein Barr Virus |
| ECG | Electrocardiogramme |
| FAG | Facteur d'Accesibilité aux Greffes |
| HB | Hémoglobine |
| HCV | Virus de l'Hépatite C |
| HGPO | Hyperglycémie Provoquée par voie Orale |
| HLA | Human Leucocyte Antigen |
| IDM | Infarctus Du Myocarde |
| IL-2 | InterLeukine de type 2 |
| IMC | Indice de Masse Corporelle |
| IV | Intra-Veineux |
| LCT | Microlymphocytotoxicité |
| MM | Mismatch |
| NFS | Numération Formule Sanguine |
| NK | Natural Killer |
| PBR | Peptide Binding Protein |
| PCR | Polymerisation Chaine Reaction |
| PGF | Fonction Primaire du Greffon |
| SAP | Seringue Auto-Pulsée |
| TCA | Temps de Céphaline Activée |
| TCR | T Cell Receptor |
| TGI | Taux de Greffons Incompatibles |
| TGO | Transaminase Glutamique Oxaloacétique |
| TGP | Glutamate Pyruvate Transaminase |
| TP | Taux de Prothrombine |
| VIH | Virus de l'Immuno-déficience Humaine |
| ZIPR | Zone Interrégionale de Prélèvement et de Répartition |
| β 2m | Beta 2 microglobuline |
| γ GT | Gamma Glutamyl Transferase |

1 Introduction

Reconnue comme une affection de longue durée, le diabète, quel que soit son type est une contrainte pour les patients.

Les traitements, tout comme les restrictions inhérentes à l'hygiène de vie imposée, sont un poids plus ou moins important selon le degré de la pathologie.

Lorsque l'on s'attarde sur les traitements, l'écart pouvant aller d'un patient à l'autre est conséquent. Allant du simple comprimé quotidien à la multi-injection d'hormone hypoglycémiante, on imagine d'une part les différences au sujet de la qualité de vie, et d'autre part les effets sur l'organisme d'une telle maladie.

Un patient diabétique de type 2 peut ne nécessiter qu'un traitement oral. Le cas des diabétiques de type 1 est différent. Souvent diagnostiqué tardivement, ce type de diabète impose des injections d'insuline pour pallier un déficit partiel ou total de la sécrétion endogène.

L'équilibre peut être plus ou moins facile à obtenir. Certains patients, malgré tous leurs efforts, ne parviennent jamais à garder un équilibre glycémique satisfaisant.

Ce phénomène s'observe soit dès le début, soit suite à un échappement progressif.

C'est pour cela que la greffe d'îlot peut leur être proposée.

Encore au stade d'étude clinique de phase 2, cette thérapie cellulaire permet une sécrétion endogène plus à même de contrôler finement la glycémie.

Les résultats sont encourageants, et augmentent de façon significative la qualité de vie de certains patients ayant bénéficié de cette opportunité.

Cependant des questions demeurent...

L'une d'elle concerne l'immunisation de ces patients. En effet, les allo-greffes successives de donneurs différents sans sélection du HLA sont un risque d'immunisation pour les receveurs.

Malheureusement, on sait que le diabète conduit à des micro et macro-angiopathies. Le rein est alors un organe sévèrement touché dans certains cas, pouvant aller jusque l'insuffisance rénale chronique terminale nécessitant une greffe pour échapper aux dialyses pluri-hebdomadaires.

Greffes et transplantations sont des opérations difficiles. Si le geste est rodé, la difficulté de trouver un organe est toujours la même. On imagine aisément que ça l'est d'autant plus que le patient est immunisé.

Le sujet de cette thèse est donc d'étudier chez les 14 patients greffés par l'équipe lilloise menée par les Professeurs Pattou et Vantyghem les conséquences d'une potentielle immunisation sur la greffe de rein.

2 Le diabète

2.1 Le diabète : notions fondamentales

Il est à noter que cette partie ne se veut nullement exhaustive. Elle ne fait que résumer des notions importantes afin d'appréhender plus aisément la thérapie cellulaire du diabète.

2.1.1 La glycémie (aspect biologie)

Le diabète (pathologie se rencontrant à tout âge de la vie) se définit par une hyperglycémie chronique. Chez l'adulte, on considère que la glycémie est normale si elle se situe entre 0,80 g/L et 1,10 g/L à jeun (soit 4,3 à 6,1 mmol/L).

Le diagnostic de cette pathologie est assez simple et repose sur le dosage de la glycémie après 8 à 12 heures de jeûne ou après une épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO), c'est-à-dire 2 heures après ingestion de 75 g de glucose per os.

Un sujet sain doit avoir une glycémie à jeun inférieure à 1,10 g/L (6,1 mol/L) ou après HGPO inférieure à 1,40 g/L (7,8 mmol/L).

Un sujet ayant une glycémie à jeun supérieure à 1,26 g/L (7 mmol/L) vérifiée à deux reprises, ou à tout moment supérieure à 2 g/L, ou après HGPO supérieure à 2 g/L (11,1 mol/L) est considéré comme diabétique.

Entre 1,10 et 1,26 g/L, on parle d'hyperglycémie à jeun (avec risque de devenir diabétique).

Enfin, on entend par intolérance au glucose une glycémie comprise entre 1,10 et 1,26 g/L à jeun et d'une glycémie comprise entre 1,4 et 2 g/L après HGPO.

2.1.2 La régulation de la glycémie

Le glucose joue un rôle essentiel dans l'apport énergétique pour l'organisme. Il est même indispensable pour le cerveau qui ne peut utiliser une autre source... La glycémie se doit donc de subir une stricte régulation, cette dernière étant assurée par un système hormonal et différents organes (surtout foie et pancréas).

2.1.2.1 Le foie

Le glucose absorbé par l'intestin suite à la prise d'un repas se retrouve dans la veine porte hépatique et arrive donc au foie. Ce dernier joue alors un rôle important de régulateur au moyen de différents mécanismes.

Il assure la glycogénogénèse pour stocker du glucose sous forme de glycogène.

Il peut alors logiquement libérer ces réserves par la glycogénolyse.

Il est également capable lorsqu'il n'y a plus de réserve de produire du glucose avec la néoglucogénèse...

2.1.2.2 Le pancréas

Connu pour ses capacités exocrines assurant un rôle dans la digestion, le pancréas possède également une fonction endocrine en sécrétant le glucagon (hormone hyperglycémisante) et l'insuline (hormone hypoglycémisante).

Remarque : la description de cet organe et de l'insuline se fera plus tardivement.

2.1.2.3 Le rein

Il réabsorbe le glucose jusqu'à un certain seuil... Au delà d'une glycémie de 1,80 g/L (9 mmol/L), ses capacités de réabsorption sont dépassées et on constate une glucosurie.

2.1.2.4 L'adrénaline (système nerveux)

Suite à un stress (stress d'hypoglycémie par exemple), cette hormone médullo-surrénalienne est sécrétée et provoque la glycogénolyse, et donc une augmentation de la glycémie.

2.1.3 Les pathologies

2.1.3.1 Diabète de type 1 ou insulinodépendant (DID)

- Epidémiologie

Sa prévalence est d'environ 200 000 personnes en France (10 à 15 % des diabétiques).

Son incidence de 7,8 pour 100 000 personnes par an est en constante augmentation (+ 4 % par an surtout avant 5 ans, ce qui fait suggérer des facteurs environnementaux). On le dépiste le plus souvent chez des sujets jeunes avant l'âge de 35 ans, et le sex ratio est de 1.

- Physiopathologie

Selon l'*American Diabetes Association* dont la classification fait référence, on distingue le diabète de type 1 auto-immun (le plus fréquent : 90 % en Europe) du diabète de type 1 idiopathique (absence d'auto-anticorps) qui ne concerne pas le sujet Caucasien. On ne parlera donc plus dans cette présentation de ce dernier.

C'est la destruction progressive des cellules β des îlots de Langerhans sécrétant l'insuline qui en est la cause. On considère que l'hyperglycémie apparaît lorsque 90 % des cellules ont été détruites.

Le déterminisme polygénique de la maladie a déjà été clairement démontré. La région avec la plus forte susceptibilité se situe sur le bras court du chromosome 6 (zone du CMH). On sait que les sujets hétérozygotes DR3/DR4 ont vingt fois plus de risque d'être touchés par ce genre de diabète. Notons qu'il existe aussi des HLA protecteurs.

A cette susceptibilité génétique, s'ajoutent comme dans toute pathologie ou presque, les facteurs environnementaux. Leur existence est suggérée par le fait que la moitié des paires de jumeaux discordent au sujet de cette maladie. De plus, l'augmentation de l'incidence en-dehors de toute sélection génique est également un indice. On suppose aujourd'hui que des infections virales (rubéole, CMV...), des facteurs diététiques (lait de vache précocement introduit dans l'alimentation), et des facteurs toxiques pourraient être impliqués dans la mise en route du processus. Aussi,

l'environnement trop propre en cause dans de nombreuses maladies auto-immunes ne peut être négligé.

On l'a dit, c'est une maladie auto-immune, dans laquelle l'immunité cellulaire (destruction des cellules β par les lymphocytes cytotoxiques TCD8) joue un rôle prépondérant.

Des auto-anticorps sont également présents. Citons :

- les anticorps anti-cellules des îlots (ICA) que l'on détecte chez les sujets jeunes
- les anticorps anti-insuline que l'on retrouve surtout chez l'enfant HLA-DR4
- les anticorps anti-décarboxylase de l'acide glutamique (anti-GAD) que l'on observe à tout âge
- les anticorps anti-IA2 (islet antigen number 2) annonciateurs de l'apparition de la maladie clinique.

On détecte dans 95 % des cas au moins un type d'auto-anticorps circulant.

Un syndrome polyurodipsique, un amaigrissement, une polyphagie, une cétonurie franche, un coma acido-cétosique sont tous les signes cliniques sur lesquels le diagnostic de DID peut reposer. La biologie intervient alors avec une glycosurie, une cétonurie et bien sûr une hyperglycémie.

2.1.3.2 Diabète de type 2 ou non insulino-dépendant (DNID)

- **Epidémiologie**

Il concerne 85 à 90 % des diabétiques.

Sa prévalence est d'environ 3 % de la population française, soit 2 millions de personnes. L'âge moyen de cette maladie est de 63 ans et le sex ratio est de 1.

- **Physiopathologie**

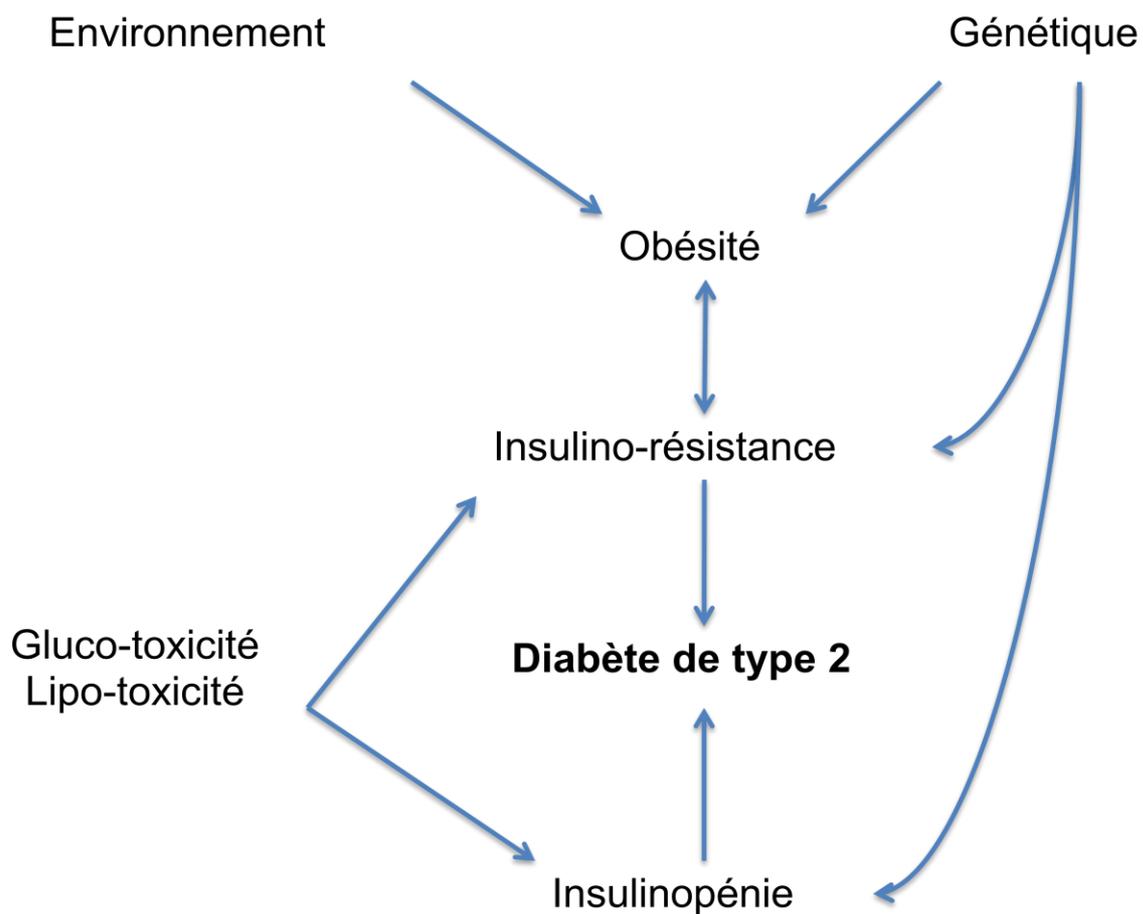
Touchant surtout les sujets obèses (80 % des cas), il résulte du déficit de l'insulino-sécrétion et de l'insulino-résistance (cf figure 1).

L'insulino-résistance consiste en une diminution de la sensibilité tissulaire à l'insuline. Elle prédomine au niveau musculaire, ce dernier captant moins le glucose. Au niveau hépatique, la production de glucose est accrue.

L'insulinopénie repose sur une sécrétion insuffisante d'insuline eu égard du taux de glucose.

Ce type de diabète est souvent diagnostiqué tardivement vu que ces symptômes cliniques sont peu importants : fatigue, jambes lourdes, mictions nocturnes... Son évolution est lente, et peut nettement s'améliorer sur une simple prise en charge diététique et physique...

Figure 1 : Physiopathologie du DNID



Gluko-toxicité : L'hyperglycémie aggrave le déficit de l'insulino-sécrétion ainsi que l'insulino-résistance, notamment par élévation du seuil du « glucose sensor » des cellules β .

Lipo-toxicité : La non freination de la lipolyse en raison de l'insulinopénie et de l'insulino-résistance des adipocytes est responsable d'une augmentation des acides gras libres. Cette dernière augmente le « seuil sensor » de l'insulino-sécrétion et aggrave l'insulinopénie.

2.2 Complications

Dans cette présentation, on choisira de différencier les complications aiguës des complications chroniques...

2.2.1 Complications aiguës

2.2.1.1 Coma acidocétosique

On observe une phase de précoma avec polyurie, polydipsie, nausées, vomissements, douleurs abdominales. Un coma calme et progressif s'installe avec dyspnée de Kussmaul (hyperventilation avec odeur acétonique de l'haleine), et signes de déshydratation intra et extra-cellulaires.

En effet, en l'absence d'insuline, et donc de glucose intracellulaire, les cellules privilégient l'utilisation des lipides, avec production de corps cétoniques responsables de cétose, d'acidose métabolique. Le traitement consiste en un apport d'insuline associé à une réhydratation...

C'est donc un coma que l'on observe chez les diabétiques de type 1.

2.2.1.2 Coma hyperosmolaire

Ce type de coma s'observe surtout chez les sujets atteints de DNID. Il associe une hyperglycémie majeure avec une déshydratation (déclenché par une fièvre, des troubles digestifs, l'utilisation de diurétiques...). L'insulinémie est suffisante pour inhiber la lipolyse mais insuffisante pour permettre la captation cellulaire du glucose. On peut observer une glycémie allant jusque 15 g/L. On traite en réhydratant intensément et en surveillant la glycémie.

2.2.1.3 Coma hypoglycémique

On peut l'observer dans tous les types de diabète... En cas de surdosage d'insuline pour le diabète de type 1, ou de surdosage de sulfamides hypoglycémiant pour le diabète de type 2. Les signes cliniques de cette hypoglycémie sont céphalées, troubles visuels, troubles de l'équilibre, irritabilité, pâleur, sueurs, tachycardies, tremblements, convulsions...

On traite en administrant du sérum glucosé (intra-veineux) avec éventuellement du glucagon (intra-musculaire).

2.2.2 Complications chroniques

2.2.2.1 Microangiopathies et macroangiopathies

Les complications chroniques sont intimement liées aux mécanismes de glucotoxicité, et donc à la voie des polyols...

En hyperglycémie, le glucose entre dans les cellules non-insulinosensibles. Cette augmentation de glucose intracellulaire conduit à la formation de sorbitol, responsable d'une hyper-osmolarité cellulaire. Cette dernière stimule la production de radicaux libres (stress oxydant) et provoque une nécrose cellulaire.

La glycation repose sur la fixation d'oses simples sur les fonctions amines des protéines, formant des composés complexes. Les produits de glycation avancés (AGE), qui modifient la structure et la fonction des protéines, participent aux complications dégénératives du diabète sucré. Les AGE sont reconnus par des récepteurs spécifiques appelés RAGE et peuvent être éliminés par voie rénale. Mais cette épuration nécessite un fonctionnement rénal adéquat et chez les diabétiques, les néphropathies sont fréquentes...

Diverses molécules sont concernées... Parmi elles, on trouve les molécules de collagène composant la matrice extracellulaire (défaut d'élasticité), les protéines de l'endothélium vasculaire (micro et macro-angiopathie), des protéines circulantes (sérum albumine, LDL, immunoglobulines)...

Les micro-angiopathies (problèmes capillaires) sont responsables de rétinopathies et de néphropathies.

Les macro-angiopathies (problèmes artériels et veineux) sont quant à elles responsables d'une augmentation de la mortalité cardiovasculaire (coronaropathie, accidents vasculaires cérébraux...).

2.2.2.2 Neuropathies

L'inositol phosphate est un médiateur intracellulaire du système nerveux sympathique formé à partir du phosphatidyl inositol après action d'une phospholipase. En bout de chaîne, on retrouve de l'inositol à recycler. Il est filtré par le glomérule et entièrement réabsorbé par le tubule rénal précoce. Cependant, son site de réabsorption est le même que le glucose... Donc, en cas d'hyperglycémie, le glucose à réabsorber est présent en grande quantité et sature le site, l'inositol ne pouvant être réabsorbé est alors éliminé... Il n'alimente plus le phosphatidyl inositol membranaire et conduit à une neuropathie...

Les neuropathies touchent le système nerveux périphérique (surtout les jambes). De par une diminution de la sensibilité, les risques d'ulcération sont importants. Elles touchent également le système nerveux autonome et provoquent diarrhées, hypotension orthostatique, vessie neurogène...

2.2.2.3 Infections

On observe également plus d'infections (cystite, vaginite, néphrite, cutanées) chez ce type de patients¹.

2.3 Traitement du diabète de type 1 par l'insuline

Dans ce type de diabète, la production d'insuline est définitivement arrêtée, c'est pourquoi son apport exogène est indispensable.

2.3.1 Découverte

Dès 1889, les physiologistes se sont intéressés au rôle du pancréas dans la régulation de la glycémie. O.Minkowski et V.Merring montrèrent qu'un chien sans pancréas était atteint de diabète grave.

Et c'est en 1921 que les premiers extraits ont été préparés à Toronto par Banting, Best, Collip et McLeod.

Les premières insulines furent préparées à partir de pancréas de bœuf et de porc.

C'est à partir des années 80 que l'insuline fut synthétisée par des organismes génétiquement modifiés (*Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*).

2.3.2 Structure

C'est une hormone polypeptidique de 51 acides aminés (6000 Da). Comme on peut le voir sur les figures 2 et 3, ces derniers sont répartis sur deux chaînes : la chaîne A avec 21 acides aminés et la chaîne B avec 30 acides aminés.

Les deux chaînes sont reliées par deux ponts disulfures (Cyst₇ A – Cyst₇ B et Cyst₂₀ A – Cyst₁₉ B). On note aussi la présence d'un pont disulfures intra-chaîne A entre la position 6 et la position 11.

Figure 2 : Représentation 2D de la molécule d'insuline

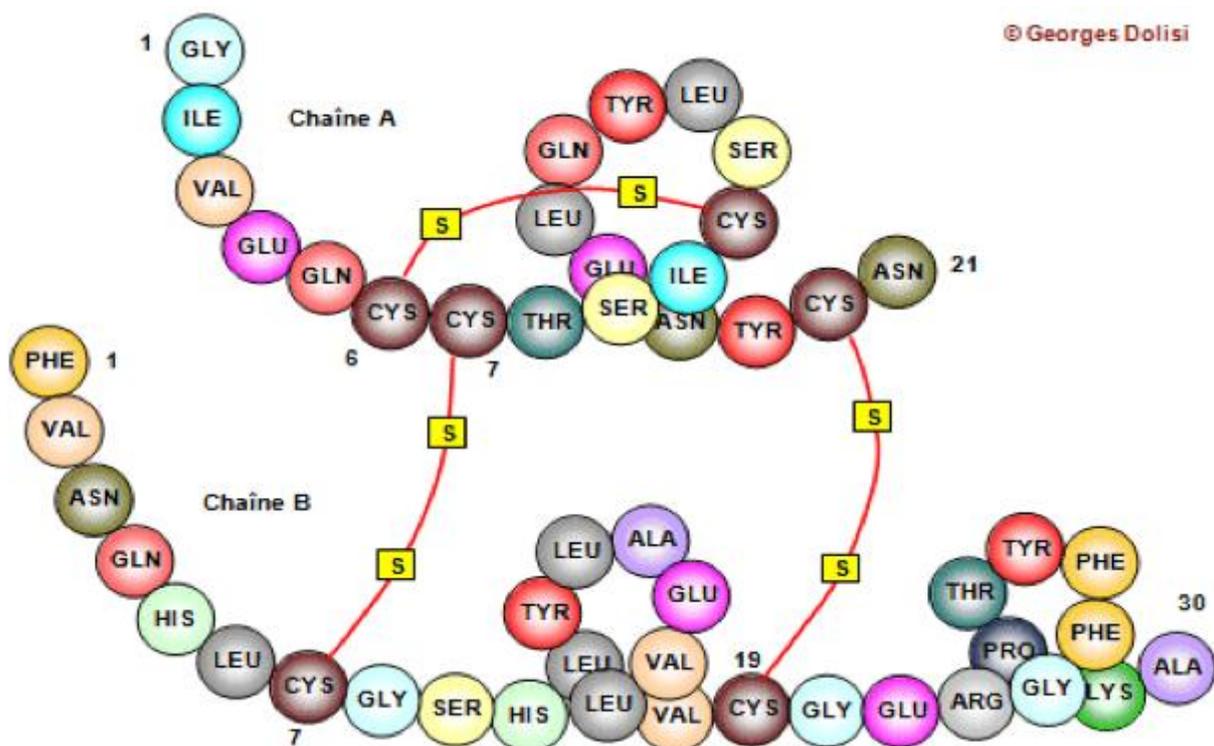
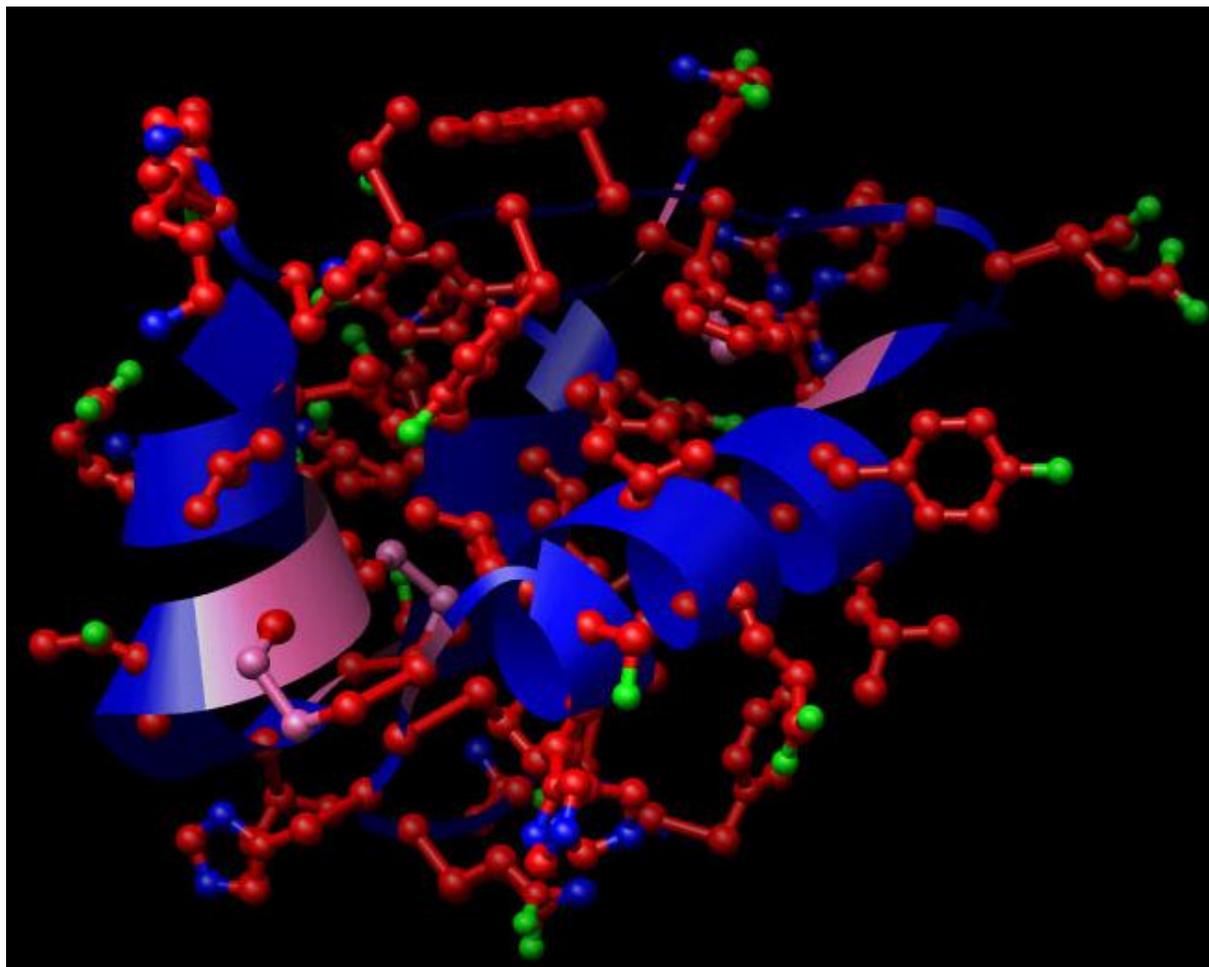


Figure 3 : Représentation 3D de la molécule d'insuline



2.3.3 Biosynthèse

La synthèse endocrine schématisée figure 4 se fait en fonction du besoin par les cellules β des îlots de Langerhans.

Le précurseur (la préproinsuline) comprend trois domaines : la chaîne A, le peptide C (peptide de connexion de 21 acides aminés), et la chaîne B (avec le peptide signal). Sa durée de vie est très brève : de l'ordre de la dizaine de minutes.

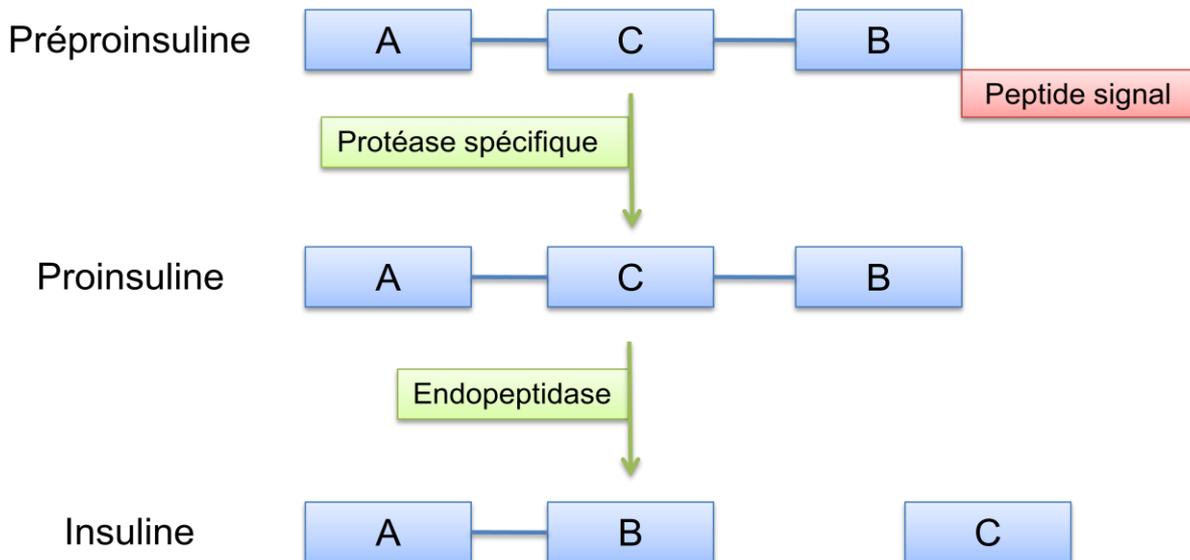
Suite à l'action d'une protéase spécifique, le peptide signal est perdu et l'on obtient la proinsuline. Cette dernière est stockée et internalisée dans des vésicules de l'appareil de Golgi durant une vingtaine de minutes.

Une endopeptidase est alors capable d'extraire le peptide de connexion. On a alors en quantité équimolaire la molécule d'insuline et le peptide C. Le tout est libéré par exocytose vers la circulation sanguine.

L'insuline joue son rôle après avoir atteint les tissus cible tandis que le peptide C (marqueur de la sécrétion endogène d'insuline) est éliminé par voie rénale.

L'insuline subit un catabolisme hépatique, à chaque passage 50% est dégradé, ce qui fait que sa demi-vie est courte : environ 5 à 10 minutes.

Figure 4 : Synthèse de l'insuline à partir de préproinsuline



2.3.4 Action

L'insuline favorise la captation du glucose par les tissus insulino-sensibles. Elle permet en outre la glycogénoformation, la glycolyse, la synthèse d'acides gras, de triglycérides, de protéines.

Elle empêche la glycogénolyse, la protéolyse, la néoglucogenèse et la cétogenèse...

2.3.5 Classification

La classification est fonction de leur durée d'action.

- Analogues d'insuline rapide (Novorapid[®], Humalog[®]...)

Certains acides aminés sont modifiés, ce qui empêche l'agglomération des molécules. D'où une diminution du délai d'action : l'injection sous-cutanée est efficace après juste quelques minutes et perd de son action en quatre à cinq heures.

- Insulines rapides (Umuline rapide[®], Insuman rapide[®]...)

Après administration sous-cutanée, les molécules agglomérées en hexamères doivent se dissocier en monomères pour agir. Quinze à trente minutes sont nécessaires pour constater une action, le plateau d'activité dure de une à quatre heures et disparaît en six à huit heures.

- Insulines d'action intermédiaire (Insulatard NPH[®], Umuline NPH[®]...)

De la protamine ou du zinc sont ajoutés à l'insuline pour former des suspensions, afin d'augmenter la durée d'action. Une heure est nécessaire pour observer une action. Le plateau est atteint en cinq à dix heures tandis que l'action disparaît en dix à vingt-quatre heures.

- Mélanges d'insulines (Novomix[®], Humalog mix[®]...)

Des insulines rapides ou analogues d'insulines rapides sont mélangées à des insulines d'action intermédiaire pour former des suspensions biphasiques. Le délai d'action est de quinze à trente minutes pour une durée totale de douze à vingt-quatre heures.

- Insulines d'action lente (Levemir[®], Lantus[®]...)
Les hexamères d'insuline sont stabilisés pour augmenter le délai et la durée d'action.

2.3.6 Conduite du traitement

Le schéma « basal-bolus » est le plus utilisé afin de se rapprocher au maximum de la physiologie humaine. Un niveau basal est maintenu tout au long de la journée, auquel des injections supplémentaires sont associées autour des repas. Le niveau basal est atteint par une pompe à insuline, par deux injections d'insuline d'action intermédiaire ou une à deux d'insuline d'action lente. Les compléments sont des injections d'insuline rapides ou ultrarapides préprandiales...

3 La thérapie cellulaire

3.1 Comment y est-on arrivé ?

Comme on a pu le voir précédemment, l'insulinémie doit être très précisément régulée... Si un excès de glucose perdure dans le sang, des complications apparaissent à plus ou moins long terme. A l'opposé, si ce taux est trop faible, un risque d'évanouissement et de coma est présent. On imagine alors les conséquences si la personne est seule à ce moment.

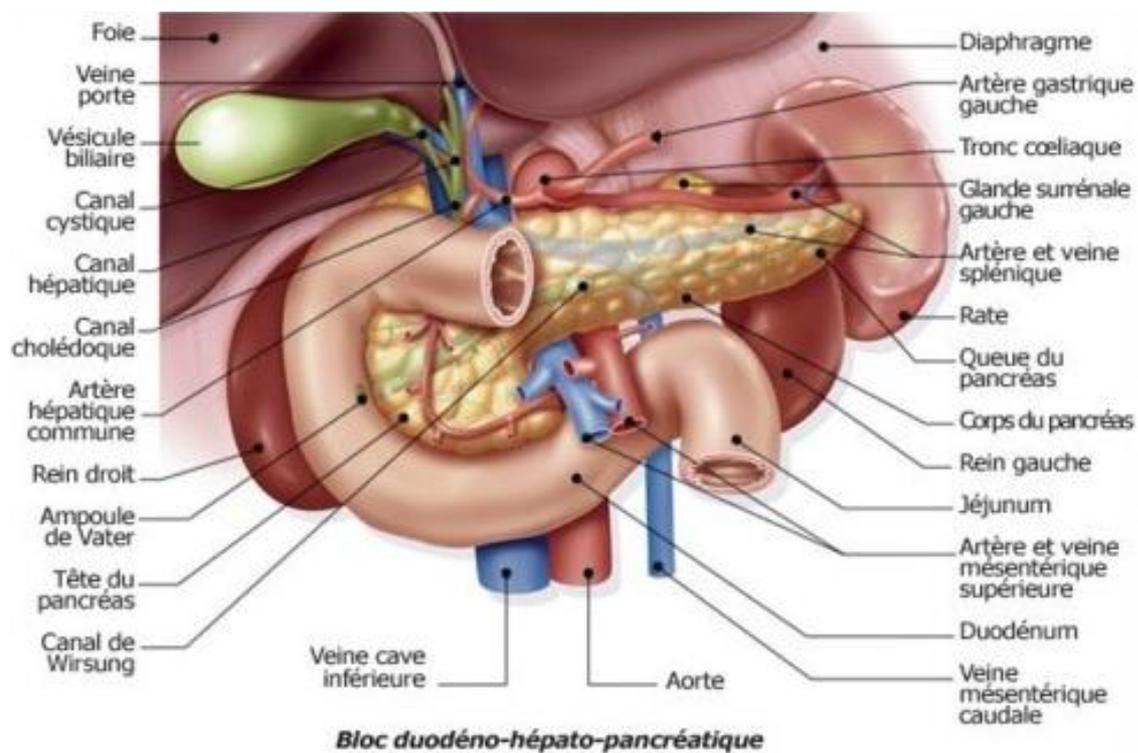
Suite à la découverte de l'insuline dans les années 1920, les médecins se sont imaginés régler le problème des diabétiques. Cependant, dans le cas de DID, on se rendit vite compte que ce traitement n'était pas parfait. En effet, les injections d'insuline ne peuvent mimer parfaitement le fonctionnement optimal d'un pancréas. Cet apport d'insuline exogène ne fait donc que retarder les complications inhérentes à cette maladie. De plus, même si ces approximations de régulation peuvent suffire à une certaine partie de la population diabétique pour vivre convenablement, le problème est que chez certaines personnes atteintes de DID, la glycémie n'est pas ou n'est plus équilibrée malgré les injections d'insuline répétées...

Si l'insuline exogène ne convient plus, une autre solution peut exister. Pourquoi ne pas reproduire une sécrétion endogène d'insuline pour contrôler plus finement la glycémie...

On le sait, l'organe responsable de sa synthèse est le pancréas. Il s'étend de droite à gauche du duodénum à la rate (figure 5). La majeure partie de cet organe rétropéritonéal constitue la partie exocrine, tandis que des inclusions sont responsables de la fonction endocrine (figure 6 et 8)...

La figure 7 représente de façon simplifiée le cycle de l'insuline, c'est-à-dire de sa production par le pancréas, à son action sur ses cibles cellulaires.

Figure 5 : Place du pancréas au sein de l'organisme



Copyright © sanofi-aventis france

Figure 6 : Représentation schématique d'une coupe longitudinale de pancréas

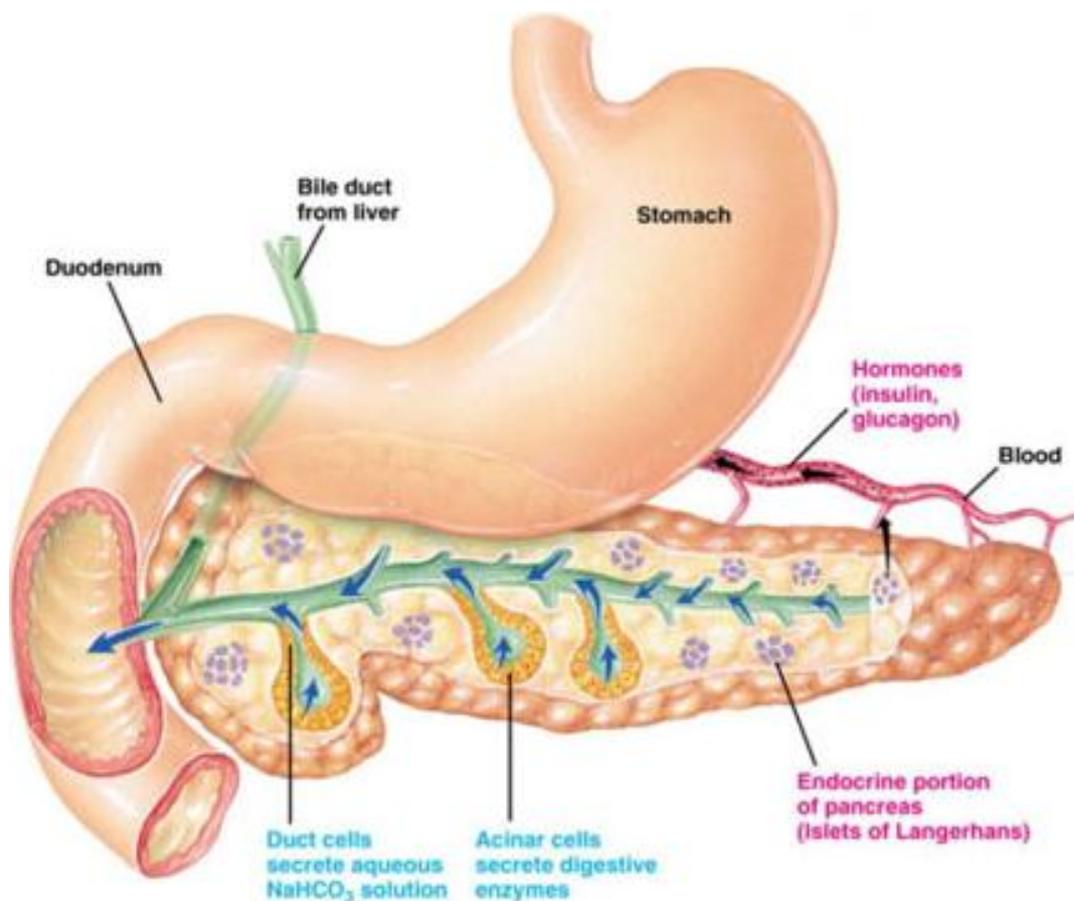


Figure 7 : Cycle de l'insuline de sa sécrétion à son action cellulaireⁱⁱ

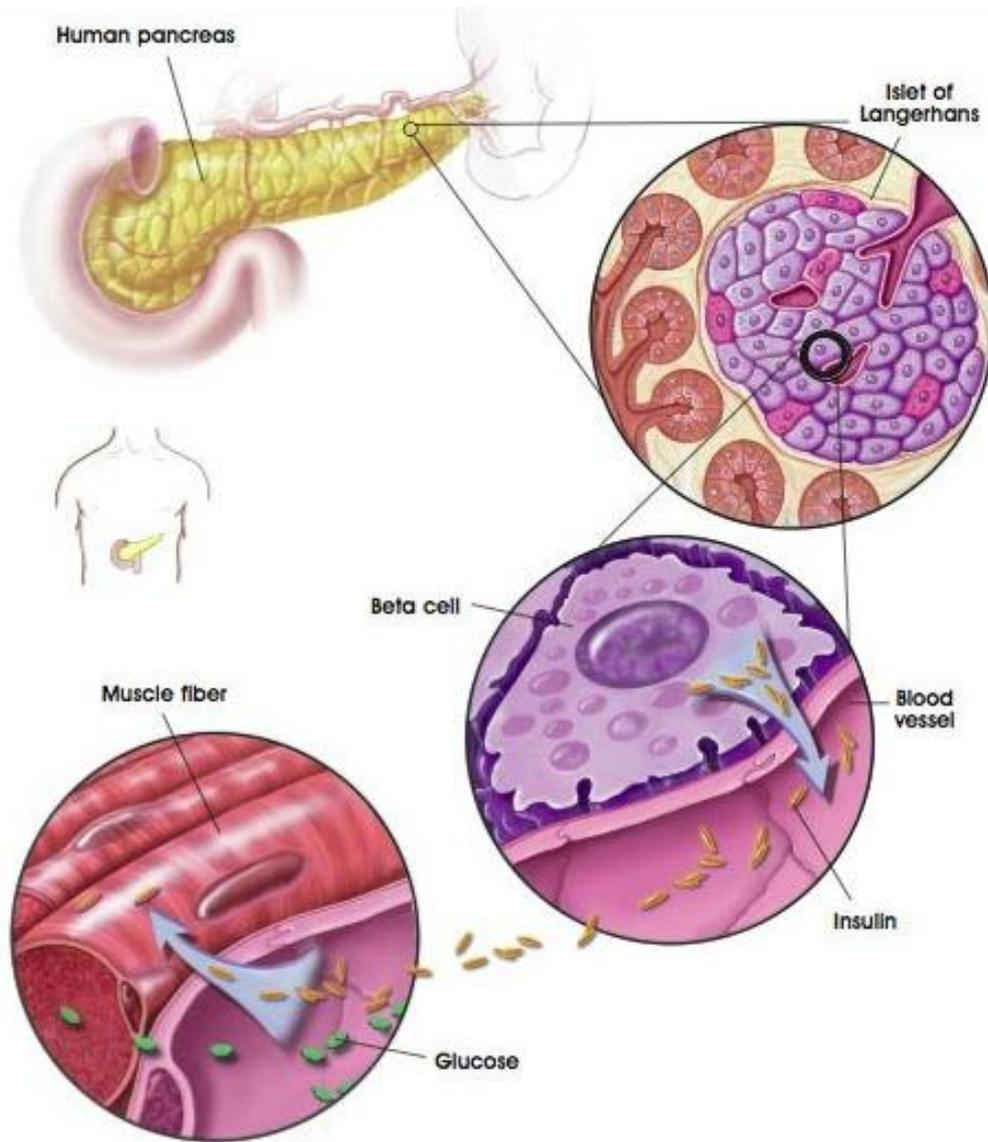
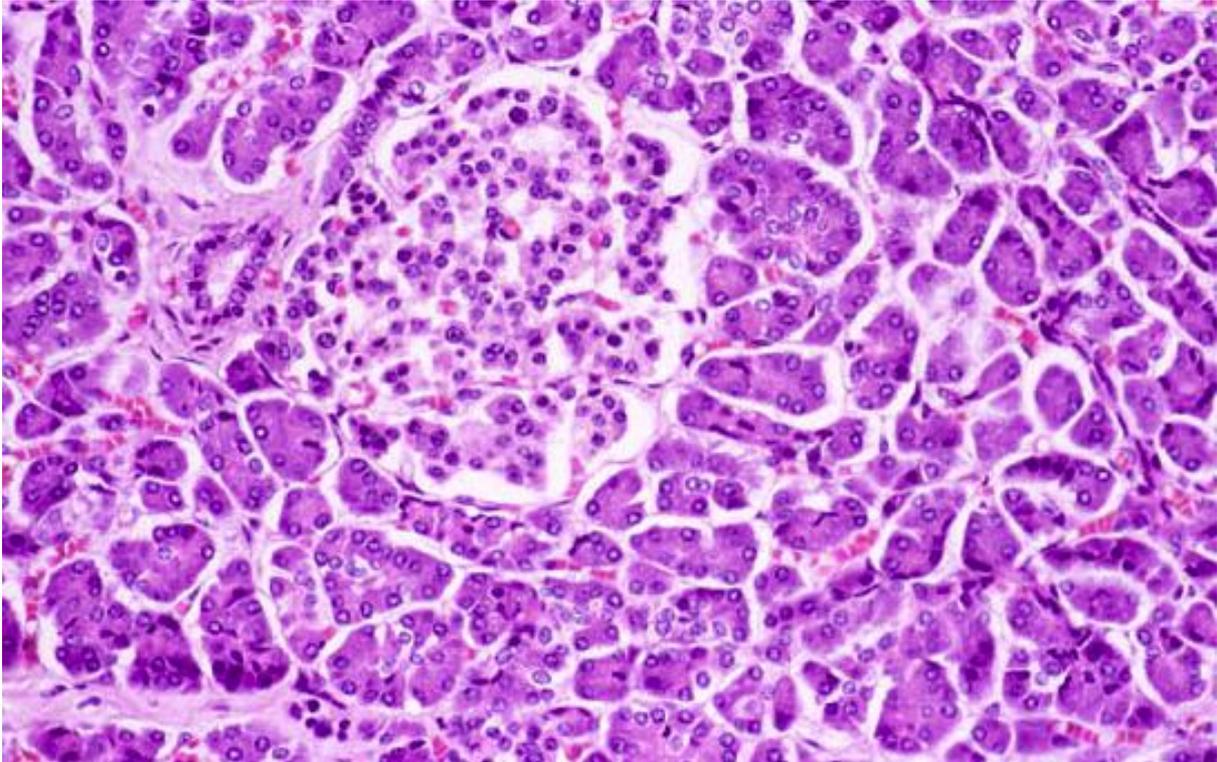


Figure 8 : Observation microscopique d'un îlot pancréatiqueⁱⁱⁱ

On observe au centre de l'image un îlot de Langerhans, entouré de la partie exocrine dominante. A gauche de l'îlot constitué des cellules α , β , δ , et PP, on peut voir un vaisseau sanguin.



Greffer un pancréas semble donc être une possibilité. Ce type de greffe a fait ses preuves et permet d'allonger de façon significative l'espérance de vie des diabétiques de type 1. Mais à quel prix...

Cela nécessite une intervention chirurgicale très délicate (les autres fonctions doivent elles aussi être maintenues et cet organe est très « sensible »). On réserve donc cette intervention aux patients très sévèrement atteints, et ayant déjà reçu une greffe de rein.

Reste alors le cas des nombreux patients n'étant pas suffisamment atteints pour bénéficier de ce type de greffe, mais ne sachant plus réguler leur glycémie malgré l'insulinothérapie substitutive et un suivi rigoureux...

La solution consiste donc en la thérapie cellulaire du diabète, c'est-à-dire la greffe exclusive d'îlots de Langerhans.

3.2 La thérapie cellulaire du diabète en quelques mots

L'idée est d'implanter dans l'organisme des îlots provenant d'un Homme en état de mort cérébrale.

Une fois son pancréas extrait, cet organe est purifié afin de n'obtenir qu'une suspension d'îlots sécrétant.

Cette suspension cellulaire est alors infusée dans la veine porte du receveur.

Le pancréas a beau être leur lieu de prédilection, cet organe est très sensible et une pancréatite est un événement indésirable potentiel. Au contraire, le foie est un

organe tolérant, au sein duquel les capillaires peuvent retenir les îlots et les laisser au contact de la circulation sanguine pour qu'ils secrètent leur insuline... Les cellules étant en permanence au contact du sang et donc en mesure d'évaluer la glycémie, la sécrétion d'insuline est bien plus finement régulée qu'avec une insulinothérapie substitutive exogène.

3.3 L'historique de la méthode

Depuis environ une vingtaine d'années, quelques équipes dans le monde développent la méthode. Les résultats sont encourageants puisqu'ils indiquent que chez certains patients, on obtient une insulino-indépendance à moyen terme (quelques années).

Comme pour toute allogreffe, un traitement immunosuppresseur est indispensable. De par les contraintes engendrées par un tel traitement, ce type de traitement expérimental n'a été réservé pendant longtemps qu'à des patients ayant déjà subi une greffe rénale.

Mais un tournant a marqué cette éventualité de traitement. C'est en 2000 que l'équipe d'Edmonton a souligné la possibilité de greffer des patients qui n'avaient pas bénéficié d'une greffe de rein, avec un traitement immunosuppresseur sans corticoïdes, et malgré tout avec d'encourageants résultats^{iv}.

Il apparaît alors que le panel de patients pouvant être candidats à un tel type de greffe s'étend considérablement...

3.4 Les problèmes rencontrés

3.4.1 La réaction inflammatoire

Dès l'infusion, une inflammation apparaît et diminue considérablement le nombre d'îlots implantés.

Cette réaction immunitaire non spécifique détruirait selon certains plus de la moitié des îlots implantés chez le receveur^v.

De plus, cette réaction serait aussi le lit de la réaction immunitaire future agissant contre ces greffons.

L'explication reposerait sur la localisation de la greffe – directement au contact du sang – qui entrainerait le déclenchement de la cascade de coagulation et d'inflammation^{vi et vii}.

Toutes ces études montrent avec différentes méthodes d'approche que la coagulation et l'inflammation, que ce soit chez l'Homme ou chez un modèle animal, sont à l'origine de la faible implantation des îlots...

3.4.2 Le rejet immunitaire

Comme pour toute allogreffe, le risque de rejet nécessite un traitement immunosuppresseur lourd. Le dernier utilisé est celui de l'équipe d'Edmonton^{viii} qui permet de se passer de l'usage de corticoïdes... Cependant, seules les formes sévères de diabète type 1 restent concernées de par une morbidité « juste » acceptable.

3.4.3 Le nombre de greffons

Une greffe nécessite en général trois infusions, correspondant à une quantité d'environ 10000 îlots équivalents par kilogramme pour atteindre une insulino-indépendance. On connaît en France comme partout ailleurs la pénurie de donneurs potentiels, c'est-à-dire de donneurs en état de mort encéphalique. Il apparaît donc que tant que des méthodes alternatives ne montreront pas leur efficacité, le nombre de greffes sera directement dépendant du nombre de donneurs.

3.5 La préparation des îlots^{ix}

Les pancréas sont prélevés sur des patients en état de mort cérébrale. A partir de ce prélèvement, une technique permet l'obtention des îlots purifiés. On peut résumer le protocole en trois grandes étapes expliquées ci-après :

- La digestion
- La purification
- Les vérifications

Cette partie ne fait que résumer la méthode. Elle ne se veut en rien exhaustive, notamment pour des raisons de confidentialité...

3.5.1 Contrôle Qualité

Seule une ischémie froide inférieure à 8 heures de l'organe peut entraîner un isolement à visée clinique.

S'en suivent alors une série de contrôles sérologiques.

Sérologies virales critiques :

HIV 1 et 2 (recherche Agp24 ou Arn HIV1)

HTLV I/II

Syphilis (diagnostic sérologique par VDRL et/ou TPHA)

Hépatite B

Hépatite C

Sérologies virales non critiques :

CMV

EBV

Toxoplasmose

3.5.2 Distension - dissection

Une désinfection dans un bain de povidone iodée plus chlorure de sodium est réalisée.

Une solution (solution de Hank) contenant une enzyme froide (collagénase) est injectée dans le réseau canaliculaire du pancréas (10 minutes environ) et la capsule pancréatique est enlevée. Cette collagénase purifiée (appelée Liberase[®] Roche) permet la dilatation de l'organe en lysant les liaisons intercellulaires.

L'organe est alors coupé en 10 morceaux.

Un premier examen bactériologique est réalisé.

3.5.3 Digestion

Les morceaux de pancréas sont alors placés dans un récipient en inox à 37°C. Ce dernier contient la solution de Hank ainsi que des billes permettant le broyage du tissu durant l'agitation.

Suite aux actions enzymatiques et mécaniques, les cellules constituées d'îlots, d'acini, de débris cellulaires (...) sont libérées dans la solution.

Au bout de 9 minutes puis toutes les 2 minutes, un technicien évalue l'état d'avancement de la digestion au microscope avec une coloration à la dithizone.

Après le recueil du digestat, et donc des îlots, lavages et purifications sont au programme avant un échantillonnage, un comptage et un examen bactériologique.

3.5.4 Purification et lavages

Une centrifugation permet de séparer les cellules selon un gradient de concentration continu.

Après plusieurs lavages, un comptage et un nouvel examen bactériologique sont réalisés.

3.5.5 Comptage et mise en culture

Pour assurer un maximum de chances de réussite à la personne greffée, il apparaît essentiel de s'assurer que la préparation obtenue réunisse tous les critères de qualité escomptés.

Des échantillons sont donc prélevés pour quantifier la population d'îlots, cette dernière étant exprimée en îlots équivalents. Pour se faire, il faut savoir qu'un îlot « standard » mesure 150 µm. On évalue alors le nombre d'îlots équivalents total et le nombre d'îlots équivalents par kilo de poids corporel de receveur.

Une vérification microbiologique est également effectuée. Une mise en culture des aérobies, anaérobies et des champignons accompagne une coloration de Gram juste avant la greffe.

La pureté est un paramètre évalué en immunohistochimie.

La viabilité des îlots permet d'apprécier l'activité métabolique et l'aspect des membranes par fluorescence.

Enfin, la sécrétion d'insuline est étudiée suite à un test au glucose. Pour se faire, les îlots sont incubés à 37 °C durant 24 heures dans du CMRL 1066 (10% de sérum de veau et 25 mmol d'HEPPES). Un nombre connu de cellules est incubé dans une faible concentration en glucose (2,8 mmol/L) ou dans une forte concentration en glucose (20 mmol/L) durant 2 heures. Le taux d'insuline sécrété par les îlots dans la forte concentration est divisé par celui des îlots dans la faible concentration en glucose pour évaluer la réponse des cellules...

4 Aspect immunologique de la greffe

4.1 Définitions

En ce qui nous concerne, nous parlons de greffe et non de transplantation. En effet il n'existe pas de rétablissement de la continuité vasculaire.

Cette greffe est allogénique car le donneur et le receveur sont génétiquement différents mais appartiennent à la même espèce.

Enfin, la greffe allogénique est hétérotopique car le greffon n'est pas implanté dans la position anatomique qu'il occupait chez le receveur.

4.2 HLA^{x xi}

4.2.1 Présentation

Le système immunitaire repose sur la distinction du soi et du non-soi.

Il a pour objectif de distinguer les signaux étrangers des signaux de son propre organisme afin d'assurer défense du soi et rejet du non-soi.

Il a alors acquis au cours de l'évolution un moyen de reconnaître les pathogènes qui ont envahi ou été pris à l'intérieur des cellules de l'hôte, ainsi que les antigènes de tumeurs produits dans le cytosol :

- Les protéines provenant de l'intérieur des cellules sont digérées en petits fragments peptidiques.
- Ces derniers sont présentés à la surface cellulaire par leur liaison à des molécules spécialisées dans la présentation des antigènes et appelées protéines du CMH de classe I.
- Les peptides dérivés de protéines ingérées à partir du milieu extracellulaire par phagocytose sont présentés par les molécules du CMH de classe II.
- Les complexes peptide-CMH servent de ligands pour les TCR.

Cette reconnaissance reposant sur les marqueurs moléculaires de l'identité constitue le complexe polygénique fonctionnel le plus polymorphe.

Ce système a un rôle physiologique positif pour ce qui est de la présentation d'antigènes protéiques, rôle central dans la réponse immunitaire. Cependant, il est aussi le responsable du rejet de greffes, et a alors un rôle négatif.

4.2.2 Bases du polymorphisme

Placé sur le bras court du chromosome 6, le complexe HLA est constitué d'environ 200 gènes formant un système subdivisé en trois classes (figure 9).

Les caractéristiques de ces gènes sont les suivantes :

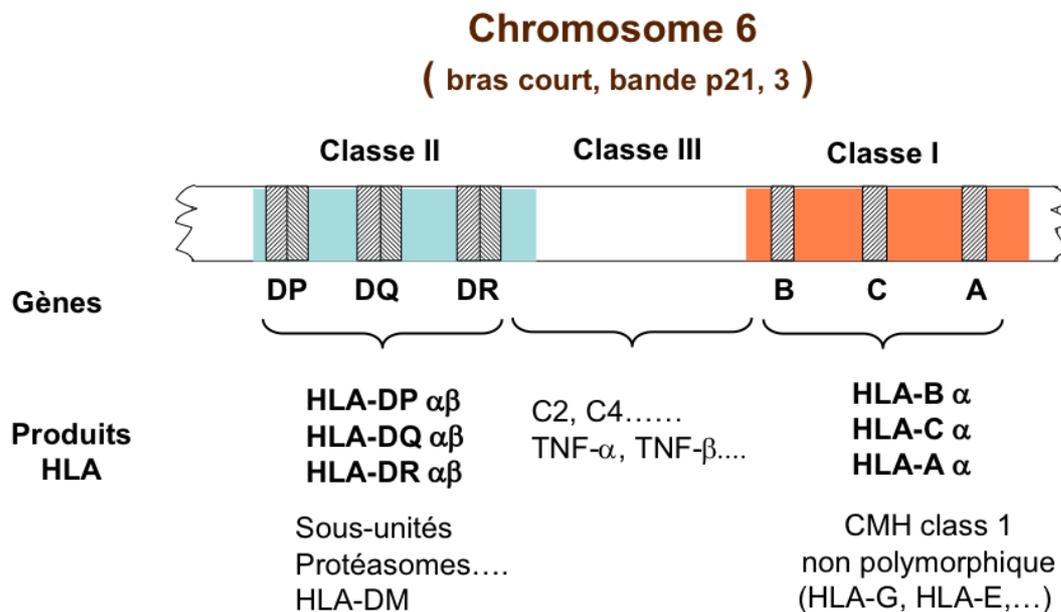
- Il y a un polymorphisme très important : chaque gène est multi-allélique (sauf HLA-DR). A chacun des loci correspond un ensemble d'allèles opérationnellement disjoints, mutuellement exclusifs.
- Les allèles sont à expression codominante (les deux allèles sont exprimés chez les hétérozygotes)
- Les gènes sont en liaison étroite les uns avec les autres. Ils se transmettent en bloc sous forme d'haplotypes.

Trois gènes codent pour la chaîne lourde alpha des molécules HLA de classe I (HLA-A, HLA-B, HLA-C). Pour chaque locus, il existe plusieurs allèles.

Les gènes de classe II sont localisés sur la région D du système HLA. On définit six sous-régions DR, DQ, DO, DM, DN et DP. Il existe deux sortes de gènes A et B pour chaque sous-région codant respectivement pour les chaînes alpha et beta de la molécule HLA-II.

Le polymorphisme des gènes des chaînes alpha est variable selon le locus considéré (DRA est monomorphe). Les gènes des chaînes beta sont tous polymorphes. Au niveau du locus DR, on trouve un gène DRA et un gène DRB1 très polymorphe. Certains individus n'expriment qu'un seul gène DRB alors que d'autres en expriment plusieurs. En fonction des allèles de DRB-1 exprimés, DRB3, DRB4, et DRB5 s'expriment aussi.

Figure 9 : Carte du complexe HLA



4.2.3 Transmission génétique

Chaque individu hérite d'un chromosome, donc d'un haplotype de chacun des parents. Il existe ainsi un grand nombre de gènes dans le CMH et un grand polymorphisme de ces gènes : le nombre d'haplotypes différent est très important. Chaque allèle codant pour une protéine différente, les phénotypes HLA sont en très grand nombre (plusieurs centaines de milliers). Lorsque l'on connaît la position respective des gènes correspondant sur les deux chromosomes, on peut écrire le génotype HLA de l'individu :

- phénotype A1 A9 B8 B12
- génotype A1 B8/A9 B12
- haplotype A1 B8 ou A9 B12.

La transmission de ces caractères est autosomique, monofactorielle et dominante. La plupart du temps, la ségrégation des haplotypes parentaux se fait en bloc sans recombinaison entre les loci. Cependant, une fois sur cent, une recombinaison a lieu

avec apparition d'un nouvel haplotype. Ces recombinaisons sont plus fréquentes chez la femme que chez l'homme.

Un caractère particulier du système HLA est l'apparition d'associations préférentielles entre les gènes des loci A et B.

4.2.4 Nomenclature

De gauche à droite :

- le système génétique HLA
- Les régions A, B, C, D
- La spécificité définie par un numéro

La première nomenclature utilise le phénotype HLA déterminé par des méthodes sérologiques. La seconde provient du génotype HLA par biologie moléculaire :

- HLA-A2 : spécificité sérologique
- HLA-A2*02 : détermination générique en ADN
- HLA-A2*0201 : détermination allélique

4.2.5 Les différentes molécules du CMH

On l'a vu, il existe principalement deux classes de molécules du CMH.

A propos des antigènes cellulaires, il faut distinguer deux types selon leur origine :

- Les antigènes intrinsèques (peptides antigéniques d'origine virale ou d'autres pathogènes vivants dans la cellule)
- Les antigènes extrinsèques

Les molécules du CMH de classe I prennent en charge les antigènes intrinsèques tandis que celles du CMH de classe II se chargent des antigènes extrinsèques. L'apprêtement passe le même processus protéolytique...

Les molécules du CMH de classe I présentent l'antigène aux cellules T cytotoxiques (qui sont importantes pour le contrôle des infections virales par lyse des cellules infectées).

Les molécules de classe II présentent l'antigène aux cellules T auxiliaires, qui aident les cellules B à produire les anticorps contre les antigènes extracellulaires.

4.2.5.1 Molécules de classe I

Ce sont des hétérodimères (figure 10) se constituant d'une chaîne lourde alpha glycosylée (45 kDa) associée de manière non-covalente à une chaîne de beta 2 microglobuline (12 kDa).

La chaîne alpha se décompose de la façon suivante :

- Trois domaines extracellulaires ($\alpha 1$, $\alpha 2$ et $\alpha 3$)
- Un segment transmembranaire
- Une queue cytoplasmique

Les domaines $\alpha 1$ et $\alpha 2$ forment le site d'insertion du peptide antigénique présenté et sont donc des domaines variables.

La beta 2 microglobuline est quasi polymorphe chez l'Homme et a (comme $\alpha 3$) une conformation semblable au domaine d'une région constante d'immunoglobuline.

Elles sont associées aux lymphocytes T CD8 et leur expression ubiquitaire est augmentée par la sécrétion d'interféron gamma.

4.2.5.2 Molécules de classe II

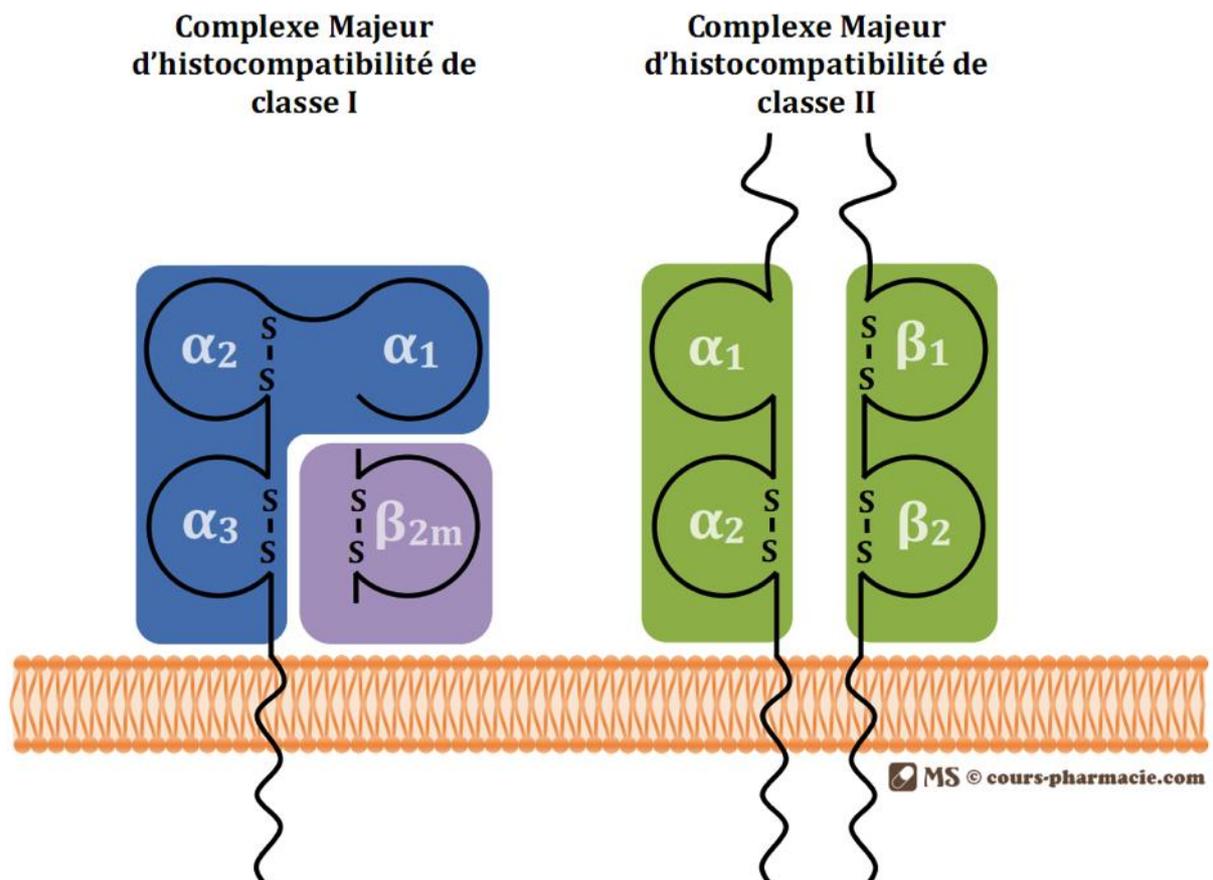
Ce sont des hétérodimères glycoprotéiques (figure 10) comprenant une chaîne lourde alpha (32 kDa) et une chaîne légère beta (27 kDa).

Les deux chaînes se constituent de deux domaines extracellulaires ($\alpha_1 - \alpha_2$ et $\beta_1 - \beta_2$) connectés à un domaine cytoplasmique par l'intermédiaire d'une séquence transmembranaire.

α_2 et β_2 ont comme α_3 et la β_2m les caractéristiques structurales des domaines constants d'immunoglobulines. Ce sont α_1 et β_1 qui sont variables et constituent la région PBR (Peptide Binding Protein).

Ces molécules se lient aux lymphocytes T CD4 et leur expression se limite aux cellules présentatrices d'antigènes.

Figure 10 : Représentation des molécules du CMH^{xii}



4.2.6 Fonctions du CMH

4.2.6.1 Présentation

Les molécules de classe I vont désigner les cellules à détruire tandis que les molécules de classe II vont désigner les cellules à activer.

Chaque molécule doit donc présenter un antigène aux lymphocytes T au moyen de sa cavité polymorphique (alpha 1 et alpha 2 pour la classe I ; alpha 1 et beta 1 pour la classe II).

Les molécules de classe I vont présenter les antigènes endocellulaires aux lymphocytes T CD8 et celles de classe II les antigènes extracellulaires aux lymphocytes T CD 4.

4.2.6.2 Education thymique

On passera rapidement sur cette partie.

Les molécules du CMH permettent la sélection positive des lymphocytes T CD4 reconnaissant le CMH de classe II et des T CD8 reconnaissant le CMH de classe I. Elles permettent aussi bien sûr la sélection négative par l'élimination des lymphocytes T autoréactifs.

4.2.6.3 Greffe et transplantation, complications dues au HLA

Transplantations et greffes sont des actions médicales confrontées à quelques obstacles. En effet, le système immunitaire du receveur considère le greffon allogénique comme du non-soi et met donc en place des mécanismes afin de le détruire.

Les barrières s'opposant aux greffes et transplantations sont les suivantes :

- L'espèce
- Les groupes sanguins
- Le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH ou HLA)
- Les antigènes mineurs

Dans notre cas, le problème de l'espèce est résolu puisque les donneurs sont des Hommes à l'état de mort cérébrale.

Quant aux groupes sanguins, la compatibilité est une notion fondamentale pour faire d'un Homme un donneur potentiel.

Ce fut en 1930 que Peter Gorer mit en évidence le rôle en transplantation chez la souris du CMH. Il démontra ultérieurement avec O'Gorman que ces alloanticorps étaient détectables par lyse médiée par le complément. On utilise d'ailleurs encore cette technique aujourd'hui^{xiii}.

Les molécules du CMH qui sont des alloantigènes génèrent donc une réponse immunitaire allospécifique, aboutissant au rejet du greffon.

Pour prévenir et contrôler ces rejets, il existe de nombreux immunosuppresseurs visant à augmenter la durée de vie du greffon. Cependant, les cibles de ces molécules sont largement distribuées au sein de l'organisme, ce qui est à l'origine des nombreux effets indésirables constatés (augmentation de l'incidence des cancers et des infections).

En plus, si les traitements sont efficaces face aux rejets aigus, ils le sont beaucoup moins pour les rejets chroniques.

4.3 Le rejet de greffe^{xiv}

Transplantations et greffes sont confrontés à un obstacle majeur. Le système immunitaire du receveur fait tout pour détruire le greffon considéré comme du non-soi.

4.3.1 Rejet aigu

Dans ce type de rejet, la réponse innée non spécifique (phase précoce) et la réponse adaptative spécifique sont mises en jeu.

Suite à une greffe ou une transplantation, indépendamment des antigènes, les lésions du prélèvement et une ischémie induisent une immunogénicité du greffon. Des signaux activent les cellules présentatrices d'antigènes et les cellules dendritiques du greffon induisant différenciation et migration vers les organes lymphoïdes du receveur. Les lymphocytes T et B naïfs se retrouvent alors stimulés et effecteurs de la réponse adaptative. Les lymphocytes T migrent vers le greffon tandis que les lymphocytes B produisent leurs allo-anticorps. Mais d'autres cellules de l'immunité innée comme les polynucléaires neutrophiles, les macrophages, les lymphocytes NK infiltrent également rapidement le greffon et induisent des lésions via la production de molécules pro-inflammatoires.

4.3.2 Rejet chronique

Il faut savoir que près de 50% des patients transplantés subissent un rejet chronique. Même si les progrès sont indéniables, la survie à long terme n'a pas véritablement évolué en trente ans.

Le rejet chronique consiste en une occlusion lente des structures tubulaires du greffon et concerne donc davantage les transplantations que les greffes.

4.4 Réalisation du typage HLA^{xv}

Deux techniques existent pour effectuer ce typage :

- le typage sérologique (étude des antigènes à la surface des cellules)
- la biologie moléculaire (définition des allèles au niveau génomique)

Les nomenclatures de sérologie et de biologie moléculaire sont différentes. La nomenclature sérologique identifie le locus suivi d'un numéro identifiant l'antigène (exemples : HLA-A2, HLA-B27, HLA-DR4). La nomenclature génomique identifie le gène, suivi d'un astérisque et d'un numéro à deux chiffres (définit la spécificité de l'allèle) ou quatre à huit chiffres (précise le variant allélique d'un allèle donné). Un typage HLA avec deux chiffres correspond à une résolution générique (par exemple, HLA -A*02, HLA -B*27, HLA -DRB1*04) et peut être utilisé dans le cadre de l'urgence pour la greffe d'organes pour typer un donneur en état de mort encéphalique ou un receveur d'organes. Le typage générique suffit également dans le cadre d'une étude HLA maladie. Un typage HLA avec quatre chiffres correspond à une résolution allélique ou spécifique (par exemple, HLA -A*0201, HLA -B*2705, HLA -DRB1*0401), sa principale indication est la recherche d'une compatibilité

tissulaire entre un donneur et son receveur dans le cadre d'une allogreffe de moelle osseuse. Plus rarement, il est conseillé pour la détermination de certains allèles associés aux maladies (par exemple, narcolepsie et DRB 1*1501, DQB 1*0602).

4.4.1 Typage sérologique

Le typage HLA peut être réalisé par une technique sérologique de microlymphocytotoxicité, communément appelée LCT. Il est alors réalisable sur cellules du sang périphérique (prélèvement d'un tube hépariné ou d'un tube ACD). Les quatre composants de la LCT sont les suivants :

- Les lymphocytes du sujet à typer, qui portent les antigènes HLA à leur surface. Pour les groupages HLA de classe I (loci HLA -A et HLA -B), les cellules utilisées sont, soit les lymphocytes totaux, soit les lymphocytes T. Pour les groupages HLA de classe II (loci HLA -DR et HLA -DQ), les cellules utilisées sont les lymphocytes B.

La séparation des cellules mononucléées du sang périphérique est réalisée en utilisant un gradient de densité Ficoll-Isopaque, car chaque population cellulaire du sang périphérique a une densité différente. Une centrifugation permet de recueillir une couche de cellules mononucléées à l'interface plasma Ficoll. Cette couche contient environ 80 % de lymphocytes T, 10 % de lymphocytes B et 10 % de monocytes. La séparation des différentes cellules mononucléées fait ensuite appel à des billes immunomagnétiques, qui retiennent les cellules d'intérêt par couplage à un anticorps monoclonal (anti-CD2 pour les lymphocytes T et anti-CD19 pour les lymphocytes B).

- Une batterie d'anticorps de spécificité anti-HLA connue (anticorps monoclonaux ou alloanticorps humains), qui sont disposés dans les puits d'une plaque de typage

- Le complément de lapin

- Le colorant dénommé fluoroquencher rajouté en fin de réaction. (Il s'agit d'un mélange d'acridine orange et de bromure d'éthidium).

La lecture des puits de la plaque a lieu au microscope inversé.

S'il y a eu reconnaissance dans un puits de la plaque, entre l'anticorps fixé au fond du puits et l'antigène HLA situé à la surface des lymphocytes du patient, le complexe antigène-anticorps formé active le complément de lapin, qui lyse ainsi les cellules. Les cellules mortes sont marquées d'une fluorescence rouge par le bromure d'éthidium.

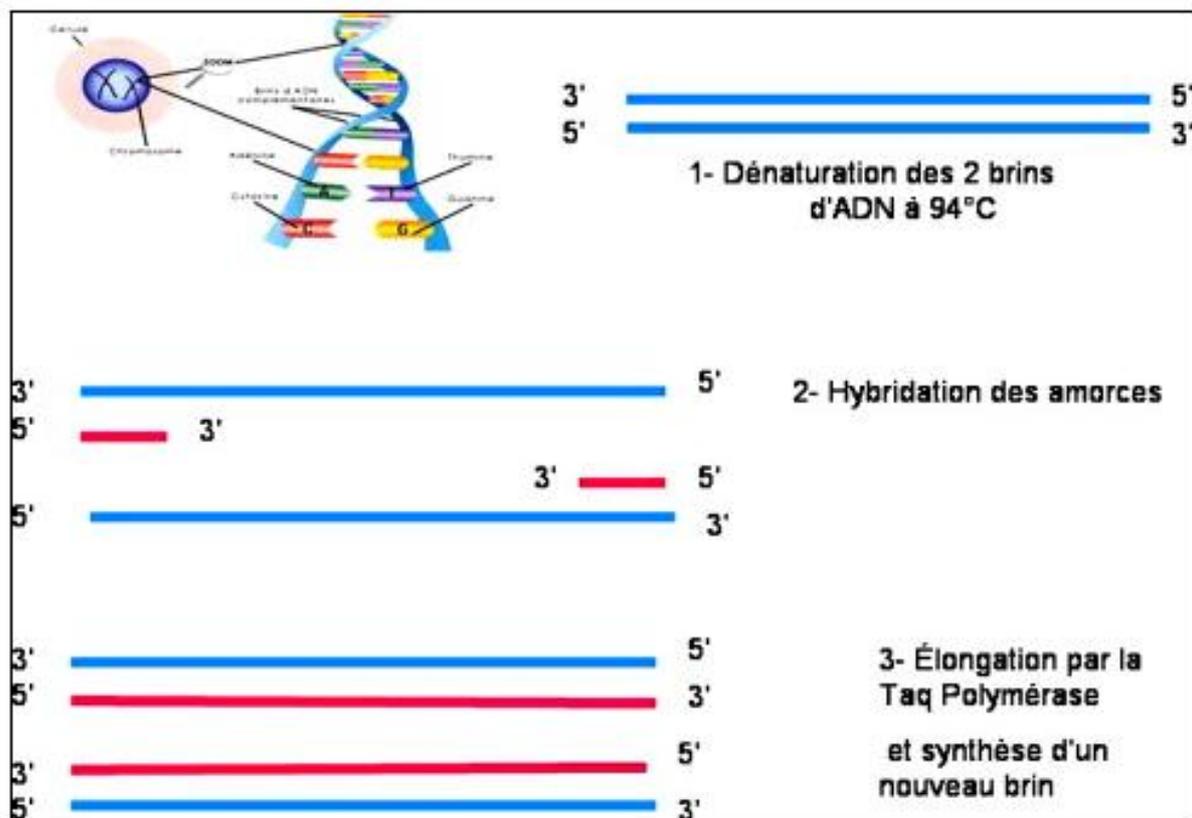
S'il n'existe pas de reconnaissance entre l'antigène de la cellule du patient et l'anticorps fixé au fond de la plaque, le complément n'est pas activé, les lymphocytes ne sont pas lysés. Les cellules vivantes sont marquées d'une fluorescence verte par l'acridine orange.

Cette technique est la technique de typage historique, rapide et la moins coûteuse. En revanche, la LCT nécessite au départ une bonne viabilité cellulaire. De plus, l'interprétation est parfois difficile, car il existe de nombreuses réactions croisées et les plaques de typage ne montrent pas toujours une bonne discrimination pour la détection des antigènes de classe II.

4.4.2 Typage par biologie moléculaire

Un typage HLA peut également être réalisé en faisant appel aux différentes techniques de biologie moléculaire, basées sur la réaction de polymérisation en chaîne (PCR), qui permet la synthèse d'un brin d'ADN complémentaire à partir d'un brin unique qui sert de matrice (figure 11). Chaque réaction met en œuvre deux amorces oligonucléotidiques, dont les extrémités 3-prime pointent l'une vers l'autre. Les amorces ou primers en anglais définissent alors, en la bornant, la séquence à amplifier. La polymérisation se fait de l'extrémité 5-prime vers l'extrémité 3-prime par une ADN polymérase qui ajoute successivement des désoxyribonucléotides présents dans le mélange en large excès. Chaque base ajoutée est complémentaire de la base correspondante du brin matrice

Figure 11 : Schéma de la PCR



4.4.2.1 PCR-SSP

Des applications ont été développées permettant la réalisation des typages HLA. Parmi celles-ci, la technique de PCR–Sequence Specific Primers (SSP) a été développée en 1992 et utilise une ou deux amorces judicieusement choisies pour n'être capables de s'hybrider qu'avec une séquence déterminée spécifique d'un allèle ou d'un groupe d'allèle. L'amplification ne sera vraiment effective que si la séquence de l'amorce est complémentaire de la séquence présente dans l'ADN génomique. Un gel d'électrophorèse en agarose à 2 % après coloration de l'ADN au bromure d'éthidium (agent s'intercalant dans l'ADN), visualisé sous UV permet de voir les fragments amplifiés. Il s'agit d'une technique rapide, plutôt réservée aux typages ponctuels comme la demande de typage HLA pour les dons d'organes. Elle génère très peu d'ambiguïtés de typage (c'est-à-dire que plusieurs possibilités de typage existent pour le même individu), mais elle ne détecte pas les nouveaux allèles.

4.4.2.2 PCR-SSO

La technique de PCR–Sequence Specific Oligonucleotides (SSO) consiste en l'utilisation d'amorces localisées dans des séquences conservées, encadrant les régions polymorphes. Les produits de PCR sont ensuite déposés sur une membrane avant d'être hybridés avec des sondes oligonucléotidiques marquées par un marqueur radioactif ou une enzyme. La technique de « reverse dot blot » est une variante de la technique de PCR–SSO. Ce sont les sondes que l'on veut hybrider qui sont fixées sur un support (membrane ou plaque). L'ADN génomique amplifié est marqué au cours de la réaction de PCR, en utilisant des amorces biotinylées et les produits de PCR seront hybridés avec un panel de sondes fixées sur un support solide. La présence de l'hybride est révélée par addition de streptavidine couplée à la phosphatase alcaline et à son substrat, développant ainsi une réaction colorée. Cette technique est automatisée, elle permet des typages ponctuels ou en série.

4.4.2.3 PCR-SBT (*sequence based typing*)

La dernière technique est celle de séquençage d'un fragment d'ADN amplifié par PCR. Elle nécessite l'utilisation d'un logiciel permettant de comparer la séquence d'ADN du patient aux séquences HLA consensus des banques de données. Pour cela, on marque les fragments d'ADN obtenus par PCR grâce à des marqueurs fluorescents. Une fois la réaction de séquence terminée, la taille des fragments obtenus est déterminée par une chromatographie. Le séquenceur détecte la fluorescence sortant des colonnes de chromatographie, repérant ainsi les fragments d'ADN et leur taille précise. Le résultat est présenté par la machine sous forme de courbes, présentant la fluorescence détectée et l'interprétation qui en est faite en terme de nucléotides. Le séquençage est réalisé pour l'analyse des gènes HLA de classe I et II, il peut porter sur un allèle ou deux allèles pour un même locus. Il s'agit d'une technique semi-automatisée, qui permet un grand débit de typage et une très bonne résolution, mais qui demeure assez coûteuse.

4.5 Détection des anticorps anti-HLA^{xvi}

Historiquement, la première méthode utilisée est celle de la cytotoxicité dépendante du complément (Complement Dependent Cytotoxicity : CDC). Si des anticorps spécifiques contre les lymphocytes sont présents, la voie classique du complément est activée et il en résulte une lyse des cellules par le complexe d'attaque membranaire. Il est possible d'augmenter la sensibilité de la procédure en ajoutant des globulines anti-humaines, qui en faisant des cross-link entre les anticorps présents, augmentent la probabilité de détecter la cytotoxicité. De plus, la réaction est répétée à différentes dilutions pour titrer la quantité d'anticorps réactifs. Le pourcentage de puits de la plaque d'échantillonnage où ont eu lieu des réactions détermine le pourcentage de Panel Reactive Antibody ou PRA. Un pourcentage au-delà de 50% de réactivité détermine un patient sensibilisé et à plus de 80%, le patient est hautement sensibilisé. Par cette méthode, une spécificité des allo-anticorps HLA, présents dans le sérum du patient, peut également être déterminée. Cette méthode, qui est la plus ancienne, a l'avantage de mesurer la cytotoxicité des anticorps présents mais n'est pas totalement spécifique pour les anticorps anti-HLA du donneur (DSA : Donor Specific Antigens), puisque d'autres anticorps, par exemple contre les antigènes lymphocytaires autres ou des auto-anticorps, peuvent

entraîner une réaction qui ne sera pas due à des antigènes HLA portés par le greffon.

Le PRA peut également être déterminé par des méthodes spécifiques et plus sensibles pour les anticorps anti-HLA et appelées Solid Phase Assays (SPA) :

- Elisa : des antigènes HLA spécifiques sont immobilisés sur une surface et on y ajoute le sérum du patient. La fixation des anticorps est mise en évidence après lavage par l'ajout d'immunoglobulines contre le fragment Fc (fragment constant) des anticorps, couplées à une enzyme. L'enzyme convertit un substrat incolore en produit coloré et la quantité d'anticorps peut être déterminée par spectrophotométrie.

- Cytométrie de flux avec des microbilles fluorescentes (flowPRA ou Luminex) : mise en contact du sérum du patient avec des microsphères sur lesquelles sont fixés des antigènes HLA déterminés. On ajoute ensuite à la solution des anticorps anti-IgG humains marqués par une molécule fluorescente, le tout étant analysé par un appareil à détection laser. Il existe différents types de microsphères, possédant soit plusieurs soit un seul antigène HLA à leur surface.

Chez tous les transplantés (surtout greffe de rein), on effectue un dépistage des anticorps anti-HLA (PRA) par CDC et Elisa avant la mise en liste. Après la transplantation, une analyse est effectuée chaque année. Pour les patients sensibilisés, on complète les examens par une détermination des spécificités par Elisa, FlowPRA, ou Luminex. Il est important de noter que la valeur du PRA peut augmenter ou diminuer dans le temps et que des pourcentages élevés sont corrélés à une augmentation des rejets hyperaigus, de non fonction primaire du greffon, de fonction retardée du greffon et de rejet prouvé par biopsie.

De plus, avant chaque greffe de rein, afin de déterminer une possible réactivité entre le receveur et le donneur pouvant mener à un rejet hyperaigu ou aigu, on effectue un cross match juste avant la transplantation avec du sérum frais du receveur (cross match final). Il est obligatoire et généralement réalisé par la technique CDC. Il est aussi possible de faire le cross match par cytométrie de flux (notamment pour le donneur vivant). Cette méthode utilise le FACS (Fluorescence Activated Cell Sorter) et met en évidence la réactivité du sérum du patient contre les cellules du donneur avec un marquage des anticorps anti-HLA. Ce test peut définir l'isotype d'immunoglobuline réactive (IgM ou IgG) et le type de cellule (anticorps anti-CD3 et anti-CD20 marqués pour mettre en évidence respectivement les cellules T et les cellules B). La cytométrie de flux est plus sensible que la technique CDC mais plus lourde à mettre en place sur le plan pratique. Le cross match, par la technique CDC, reste ainsi la référence avant chaque greffe.

5 Dernière étude de l'équipe lilloise

Comme nous avons déjà pu le préciser, il est essentiel de contrôler le plus tôt possible dans l'évolution de la maladie la glycémie afin d'en limiter les conséquences néfastes sur l'organisme. Suite à l'étude de l'équipe d'Edmonton^{xvii}, une équipe lilloise a décidé de respecter le même protocole et d'en améliorer certains paramètres afin d'augmenter le succès^{xviii} ...

Le succès se définit par une insulino-indépendance un an après la greffe avec évidemment un équilibre glycémique satisfaisant (apprécié par le taux d'hémoglobine glycyquée). Il existe aussi des critères secondaires qui seront abordés ultérieurement.

5.1 Méthodologie^{xix}

Cette thérapie cellulaire consiste à infuser par un cathéter intraportale en une à trois injections sur six mois une quantité correspondant à 10000 îlots équivalents par kilogramme.

L'inclusion des patients dans cet essai ouvert prospectif non vérifié est stricte. Les diabétiques de type 1 susceptibles d'être candidats à la greffe sont vus en consultation par un endocrinologue. Cette entrevue permet de vérifier que le patient remplit bien la première partie des critères et de l'informer sur les modalités, risques et objectifs de l'étude. Ce n'est qu'à partir de ce moment qu'un bilan pré-greffe peut être réalisé afin d'établir la conformité avec les critères d'inclusion et d'exclusion...

5.1.1 Sélection des patients

5.1.1.1 Critères d'inclusion

- Avoir entre 18 et 65 ans
- Etre atteint d'un diabète de type 1 depuis au moins 5 ans
- L'un au moins des critères suivants :
 - Absence de perception des hypoglycémies (glycémie < 3 mmol/L ou 0,54 mg/L)
 - Plus d'une hypoglycémie grave au cours des 18 derniers mois ayant nécessité l'intervention d'un tiers
 - Instabilité métabolique caractérisée par l'alternance d'hypoglycémie et de cétoacidose
 - Retentissement sur le mode de vie ou mise en danger de la propre vie du patient ou celle des autres, ou apparition progressive de complications secondaires en dépit d'une insulinothérapie optimisée
 - Echec d'une insulinothérapie intensive jugé par un endocrinologue indépendant

5.1.1.2 Critères d'exclusion

- Macro-angiopathie évolutive (IDM, coronaropathie, ischémie myocardique, AVC, artérite évolutive)
- Intoxication alcoolique ou tabagique

- Pathologie psychiatrique majeure après consultation psychiatrique
- Antécédent de non adhésion à un traitement
- Infections actives (incluant hépatite C ou VIH)
- Antécédents de cancer sauf certains cancers cutanés notamment basocellulaires, à moins qu'un avis oncologique indépendant ait donné un avis favorable
- Obésité (IMC > 28)
- Réponse du C-peptide après stimulation par arginine 5 g IV à plus de 0,3 ng/mL à 2, 3, 4, 5, 7, ou 10 minutes après l'injection
- Perturbations du bilan hépatique : phosphatases alcalines, gamma-GT et transaminases supérieures à deux fois la normale
- Incapacité à donner un consentement éclairé
- Moins de 18 ans ou plus de 65 ans
- Clairance de la créatinine < 60 mL/min/m² ou microalbuminurie (albuminurie > 300 mg/24h)
- Taux d'hémoglobine < 11 g/dL chez la femme et 12 g/dL chez l'homme
- Anomalie de la NFS
- Présence de lithiase ou d'hémangiome hépatique sur l'échographie abdominale standard
- Rétinopathie évolutive
- Test de grossesse positif, désir de grossesse, incapacité à suivre une contraception efficace ou allaitement maternel
- Antécédents de transplantation ou d'hyper-immunisation (taux d'anticorps anti-HLA supérieur ou égal à 80 %)
- Besoins en insuline > 1,2 U/Kg/jour
- Hémoglobine A1c > 12 %
- Hyperlipidémie non traitée

5.1.1.3 Mise sur liste d'attente

Suite à la vérification des différents critères cités, le patient est placé sur la liste d'attente nationale de l'Établissement Français des Greffes. S'il ne bénéficie pas d'une greffe dans les six mois, alors une réévaluation des critères est nécessaire. Lorsqu'un pancréas est disponible, il est attribué à un patient en fonction de la compatibilité ABO et des cross-matches. De plus, suite à la première infusion, les pancréas compatibles suivants lui sont prioritairement attribués jusqu'à ce qu'il ait reçu une quantité d'îlots suffisante.

5.1.2 Le bilan pré-inclusion

- Histoire médicale
- Examen clinique
- ECG, radio de thorax
- Epreuve d'effort ou scintigraphie myocardique
- Echographie abdominale de la veine porte afin d'éliminer toute lithiase ou hémangiome
- Evaluation psychologique
- Examen ophtalmologique
- Electromyogramme
- Consultation gynécologique avec recherche d'une infection à Chlamydiae au-delà de 40 ans
- NF, TP, TCA, rhésus

- C-peptide de base
- Hémoglobine A1c
- Cholestérol total, HDL-cholestérol, LDL-cholestérol, triglycérides, glycémie
- Ionogramme sanguin, urée, créatininémie, magnésium, phosphorémie, calcémie, TGO, TGP, protidémie, phosphatases alcalines
- Sérologies : HIV 1 et 2, HTLV 1 et 2, anti-HCV, Antigène HBs, anticorps anti-HBs, Ig G et Ig M anti-CMV, Ig G anti-EBV, syphilis, toxoplasmose
- Typage tissulaire HLA-A, B, DR et recherche d'anticorps anti-lymphocytaires
- Marqueurs d'autoimmunité : anticorps anti-GAD, ICA 512, IA2, anticorps anti-insuline, étude du changement d'isotypes des autoanticorps
- Tests urinaires : microalbuminurie, protéinurie des 24 heures, rapport microalbuminurie sur créatinine, beta-HCG
- Clairance de la créatinine mesurée
- Etudes métaboliques : réponse du C-peptide à l'arginine, amplitude moyenne des excursions glycémiques

5.1.3 Le jour de la greffe

Un bilan sanguin est réalisé à l'arrivée du patient dans le service :

- Paramètres biochimiques
- Bilan urinaire
- Examen clinique avec constantes vitales, taille, poids
- Microbiologie et sérologie : IgM et IgG anti-CMV, IgG anti-EBV, recherche de champignons dans les crachats, les urines et le sang
- Biologie de routine, C-peptide, HB A1c
- Sérothèque, plasmathèque
- Radiographie de thorax si supérieure à trois mois
- Administration des immunosuppresseurs (sirolimus, tacrolimus, daclizumab)

Une perfusion de glucosé est mise en place associée à l'administration IV d'insuline en SAP.

5.1.4 Surveillance

Entre deux greffes, le patient continue de surveiller sa glycémie capillaire six fois par jour et sa cétonurie deux fois par jour au domicile. Trois prélèvements sanguins (cf examens courants de la figure 12 ci-dessous) sont effectués la première semaine et un examen clinique hebdomadaire est réalisé durant le premier mois (ensuite tous les quinze jours durant quatre mois puis tous les mois). Ce protocole est réinitialisé à chaque greffe.

Un an après la première injection, le bilan pré-inclusion est de nouveau réalisé.

Figure 12 : Examens courants

| | Pré-greffe | J0 | J1 | Sem 1 | Sem 2 | Sem 3 | Sem 4 | Sem 6 | Sem 8 | Sem 11 | Sem 13 | Sem 15 | Sem 17 | Sem 21 | Sem 26 | Sem 30 | Sem 34 | Sem 39 | Sem 43 | Sem 47 | Sem 52 |
|--|------------|----|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| NFS / VS / CRP | X | X | X | XXX | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Glycémie | X | X | X | XXX | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Urée | X | X | X | XXX | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Créatinine | X | X | X | XXX | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Protidémie | X | X | X | XXX | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Ionogramme | X | X | X | XXX | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Uricémie | X | X | X | XXX | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Calcémie | X | X | X | XXX | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Phosphorémie | X | X | X | XXX | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Bilan hépatique | X | X | X | XXX | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Cholestérol | X | X | X | XXX | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Triglycérides | X | X | X | XXX | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Cpeptide sanguin à jeun et post prandial | X | X | X | XXX | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Dosage tacrolimus | | | | XXX | XXX | XXX | XXX | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Dosage sirolimus | | | | XXX | XXX | XXX | XXX | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Test à l'arginine sur C peptide | X | | | X | | | X | | | | | | | | | | | | | | |
| HBA1c | X | X | | | | | X | | X | | | | | | | | | | | | |
| Microalbuminurie | X | X | | | | | X | | X | | | | | | | | | | | | |
| HPO | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Marqueurs autoimmuns anticorps anti-insuline, anti-GAD 65, anti-ICA 512, IA2 | X | X | | | X | X | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Marqueurs oxydatifs | X | X | | | X | X | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Hormones pancréatiques (glucagon, VIP, polypeptide pancréatique) | X | X | | | X | X | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Sérothèque, plasmathèque | X | X | | | X | X | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Clairance de la créatinine | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Acuité visuelle | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| FO et fluorographie | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ECG, EMG | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

5.1.5 Les traitements

On ne peut évidemment pas parler de greffe sans s'intéresser au traitement immunosuppresseur inhérent à ce sujet. Nous verrons cependant que d'autres traitements interviennent également...

5.1.5.1 Le traitement immunosuppresseur

Utilisés en cas de greffe de tissu ou de cellules par transplantation d'un donneur vers un receveur, les immunosuppresseurs préviennent le phénomène de rejet en diminuant la réponse immunitaire. Le protocole instauré par l'équipe d'Edmonton a été le plus efficace et a donc été repris depuis par les autres équipes pratiquant ce type de thérapie cellulaire.

Le respect de ce protocole implique l'absence de corticoïdes dans l'ensemble des médicaments à administrer.

Comme souvent, il comprend une première étape d'induction suivie d'un traitement d'entretien. L'adaptation posologique des immunosuppresseurs est basée sur l'évaluation clinique (c'est-à-dire l'efficacité et la tolérance). Pour certaines molécules, une surveillance thérapeutique par le dosage sanguin du médicament est nécessaire.

Le traitement immunosuppresseur repose principalement sur la cytokine suivante : l'interleukine de type 2.

En plus des interactions entre surfaces cellulaires, des cytokines agissant localement sont nécessaires à la division des cellules T.

La liaison du TCR et des corécepteurs engendre une synthèse d'IL-2 par la cellule T. L'interaction de cette dernière avec son récepteur conduit à la prolifération des cellules T.

Sur les cellules T au repos, le récepteur à l'IL-2 est présent sous une forme dont l'affinité est faible et qui comporte deux chaînes polypeptidiques. Une chaîne β liant l'IL-2 et une chaîne γ servant à la transmission du signal.

Quand la cellule T est activée, elle produit une chaîne α (CD 25 ou antigène Tac pour Antigène des cellules activées) qui contribue à l'interaction avec l'IL-2 et forme avec les autres chaînes un récepteur de haute affinité.

L'expression du récepteur transitoire (une semaine), et l'induction du CTLA-4, mettront fin à la prolifération cellulaire. Sans signaux positifs, les cellules T commencent à mourir par apoptose.

Dans notre cas, le traitement se compose de trois molécules.

Daclizumab^{xx}

Le traitement repose sur cinq administrations réparties sur dix semaines de daclizumab (Zenapax[®]) à la posologie de 1 mg/Kg (100 mg maximum).

La première injection est réalisée immédiatement avant la greffe et est renouvelée toutes les deux semaines.

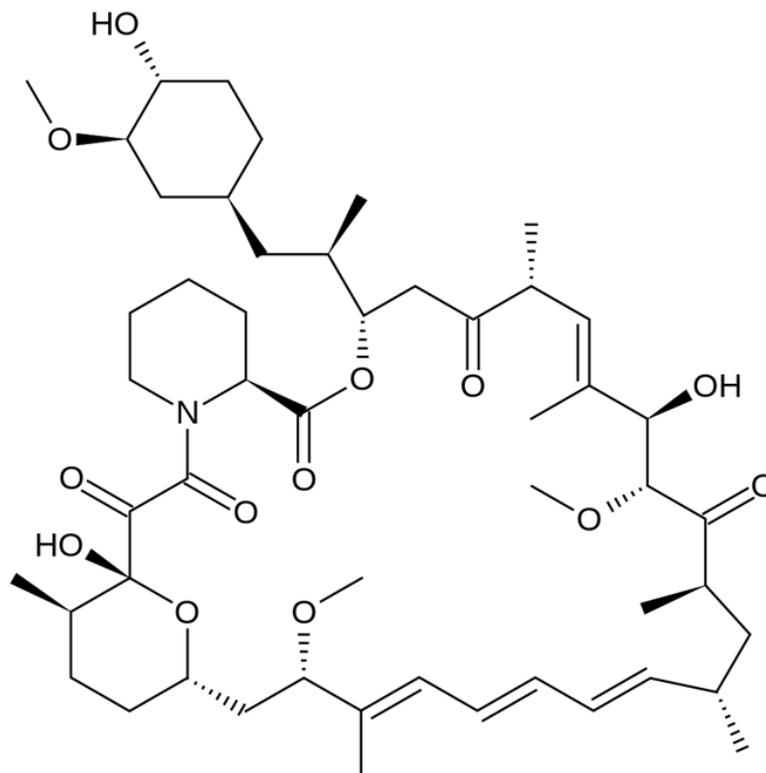
La spécialité est diluée dans 50 mL de sérum physiologique à 0,9% afin d'être injectée par voie intra-veineuse périphérique sur une durée de 15 minutes.

Le daclizumab est un anticorps monoclonal humanisé d'origine « génétique - recombinant » appartenant à la classe des anti CD-25. Il bloque donc la fixation de l'interleukine 2 à son récepteur (l'IL-2 étant le principal facteur de croissance pour les cellules T), en ayant une action spécifique contre la chaîne α . Le CD-25 n'étant exprimé que sur les lymphocytes T activés, le daclizumab concourt à protéger le sujet transplanté par une activation des lymphocytes T et par la suppression de la sécrétion des cytokines.

C'est une molécule qui ne demande pas de dosage plasmatique et qui est généralement bien tolérée. On retrouve le plus fréquemment des nausées, une constipation, des troubles du système nerveux central et des troubles cutanés.

Sirolimus^{xxi}

Figure 13 : Schéma moléculaire sirolimus



On utilise le sirolimus (Rapamune[®]), administré en dose de charge à 0,2 mg/kg/jour juste avant la greffe, puis 0,1 mg/kg/jour le matin de sorte que les concentrations sanguines soient comprises entre 12 et 15 ng/mL pendant trois mois, puis 7 et 10 ng/mL ensuite.

Il se présente sous la forme de comprimé enrobé ou de solution buvable.

Le sirolimus, antagoniste de l'IL-2, est un inhibiteur du signal de prolifération. En effet, il inhibe la transduction du signal initié par cette cytokine.

C'est un métabolite fongique découvert sur l'île de Pâques, Rapa Nui, qui n'agit pas sur la production d'IL-2, mais inhibe la réponse à cette cytokine, en interférant dans la transmission des signaux induits par la liaison de la cytokine à son récepteur.

Il se fixe sur une immunophiline intracellulaire FKBP 12 (FK-binding protein 12), ce complexe bloquant l'activité d'une kinase appelé mTOR (mammalian Target Of Rapamycin) ou FRAP (FKBP Rapamycin Associated Protein). Cette dernière étant nécessaire à l'activation des cyclines dont dépend le passage de la cellule de la phase G1 à la phase S. En inhibant l'activité de la FRAP, on observe aussi in vitro un blocage de l'activité d'une autre kinase (p70s6), ce qui entraîne une inhibition sélective de la transcription d'ARNm et de la traduction de nouvelles particules ribosomales.

Le sirolimus est donc un inhibiteur de la transduction du signal de prolifération cellulaire et d'expansion clonale des cellules T activées, initié par l'IL-2.

On peut noter qu'il inhibe en fait la signalisation émise à partir de récepteurs de plusieurs facteurs de croissance, ce qui lui confère des effets anti-prolifératifs très étendus (raison d'un écartement par manque de spécificité au début des études in vitro).

Cet inhibiteur du signal de prolifération agit avec les inhibiteurs de la calcineurine par l'inhibition d'étapes successives dans la réponse immune à médiation cellulaire. Leur association est synergique dans la prévention du rejet de greffe.

Le sirolimus attire de plus en plus l'attention pour différentes raisons :

Il permet de diminuer l'exposition à la ciclosporine et d'améliorer d'autant la fonction rénale des transplantés.

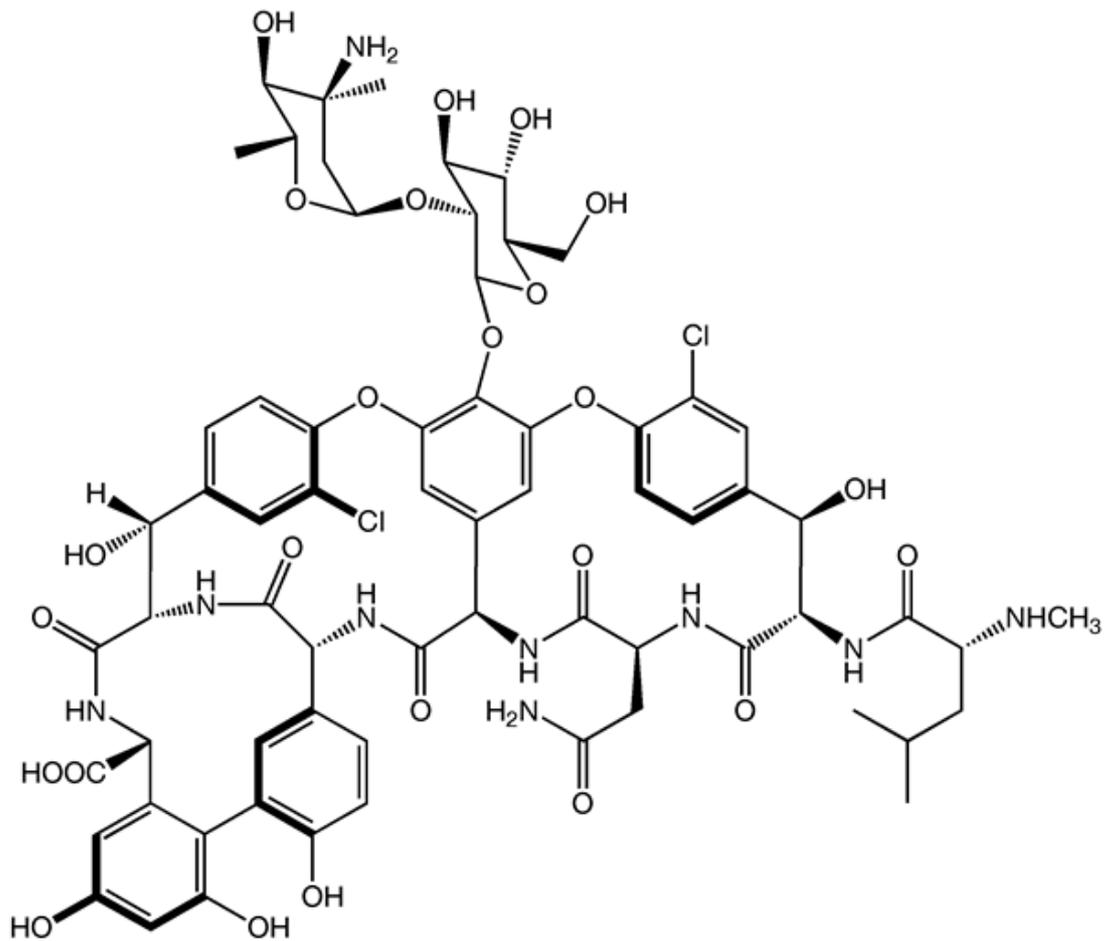
Il favorise la tolérance dans le sens où si les cellules T sont exposées à l'antigène dans des conditions favorisant la tolérance, comme le blocage de la co-stimulation, le sirolimus permet à la tolérance de se développer, alors qu'au contraire, selon certaines observations, les inhibiteurs de la calcineurine peuvent inhiber le développement de la tolérance dans des circonstances semblables.

Il possède des effets antiprolifératifs larges, ce qui réduit l'incidence de certains cancers...

Métabolisé par le cytochrome P450 isoforme 3A4, il induit très fréquemment une élévation importante du cholestérol et des triglycérides, mais aussi thrombopénie, anémie, hypokaliémie, troubles intestinaux, infections urinaires, lésions dermatologiques de type acné. On retrouve de façon fréquente une présence d'œdèmes, des troubles fonctionnels hépatiques, des infections fongiques virales et bactériennes, une leucopénie, une tachycardie...

Vancomycine^{xxiii}

Figure 15 : Schéma moléculaire vancomycine



La Vancocine[®] est un glycopeptide responsable d'une inhibition de la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne des Gram positifs, avec pour conséquence la lyse bactérienne.

Il se lie à la chaîne pentapeptidique du peptidoglycane, formant une poche rigide, et masquant le site d'action des transpeptidases chargées de former les ponts peptidiques du peptidoglycane.

Les glycopeptides empêchent également de par leur taille la réaction de transglycosilation nécessaire à la synthèse du peptidoglycane.

On observe donc une inhibition de la croissance puis la mort bactérienne.

Spécifique à la vancomycine, il existe deux autres mécanismes d'action. Elle altère la perméabilité de la membrane et inhibe la synthèse d'ARN.

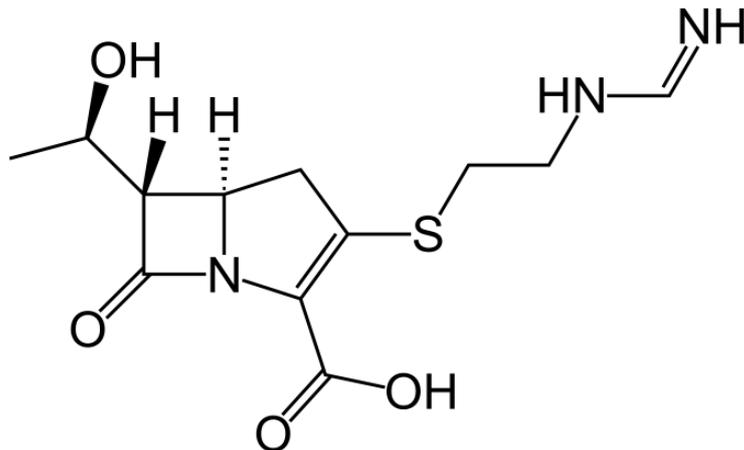
De par sa taille, ce glycopeptide possède un spectre d'activité étroit limité aux bactéries Gram positifs. Il ne peut emprunter les porines de la membrane externe de bactéries à Gram négatifs pour exercer son action.

On observe une activité sur les staphylocoques dorés à coagulase négative, les streptocoques, y compris les pneumocoques et entérocoques, les corynébactéries, les *listeria*, et certains *clostridium*, notamment *Clostridium difficile*.

Les glycopeptides ne sont pas absorbés par voie orale, on les administre en perfusion intraveineuse.

Imipenem^{xxiv}

Figure 16 : Schéma moléculaire imipenem



Le Tienam[®] est la pénicilline possédant le plus large spectre d'action de par notamment sa grande résistance aux bêta-lactamases.

Comme toute pénicilline, il est bactéricide par inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne, le cycle caractéristique beta-lactame se fixant aux enzymes de synthèse du peptidoglycane (PBP Penicillin Binding Protein).

L'imipenem est actif sur de nombreuses souches hospitalières de bacilles à Gram négatif déjà résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération. Il agit également sur les cocci à Gram positif et négatif, et sur les bacilles à Gram positif.

Cet antibiotique doit également être administré par voie veineuse de par son absence de résorption digestive.

5.1.5.3 Traitement adjuvant

Il consiste en l'adjonction d'un traitement vitaminique. On y trouve de la vitamine E (3 comprimés de Tocomine 100 mg par jour), de la vitamine A (1 comprimé d'Arovit tous les 15 jours pendant 10 semaines) et de la vitamine B6 (1/2 comprimé à 250 mg par jour).

5.2 Résultats

5.2.1 Critères d'évaluation

Le principal critère est bien sûr l'insulino-indépendance que l'on commence à juger deux semaines après la première greffe. Pour cela, le contrôle glycémique est apprécié de la manière suivante :

- Taux d'HbA1c < 6,5%
- Moins de trois glycémie matinales > 0,78 g/L par semaine
- Moins de quatre glycémies post-prandiales (2h) > 1 g/L par semaine

On juge également la réussite en fonction de critères secondaires évalués à partir de la deuxième semaine :

- Niveau de C-peptide (> 0,5 ng/mL)
- Tolérance au glucose
- Réponse du C-peptide à l'arginine
- Glycémie moyenne sur Holter
- Réduction des besoins en insuline

5.2.2 Résultats

Pour cette étude de phase deux, 14 patients diabétiques de type 1 ont été pris en charge. Ils ont reçu une moyenne de 12 479 îlots équivalents par kilogramme de poids corporel en deux ou trois infusions sur un intervalle de 67 jours.

La fonction primaire du greffon (PGF) est estimée par le β -score un mois après la dernière infusion.

Ce dernier, compris entre 0 et 8, est basé sur le traitement oral, les besoins en insuline exogène, la concentration plasmatique en C-peptide, la glycémie, et le taux d'hémoglobine glyquée A1c.

On observe que tous les patients sont insulino-indépendants environ 12 jours après la dernière infusion. La fonction primaire du greffon est alors optimale chez 9 patients (β -score supérieur ou égal à 7) et sub-optimale chez 5 patients (β -score inférieur ou égal à 6).

Trois ans et quatre mois plus tard, parmi les 8 patients encore insulino-indépendants, 7 d'entre eux ont encore un PGF optimal. 6 patients ont du rebénéficier d'insuline ou d'antidiabétiques oraux pour maintenir un contrôle métabolique satisfaisant.

5.2.3 Contestation

Nous n'évoquerons pas ici tous les points de contestation possibles mais juste celui qui nous amène à l'étude effectuée...

On l'a vu, ce n'est pas une seule greffe, mais bien un ensemble de greffes (en moyenne trois) de donneurs différents que nécessite cette thérapie. Les patients se voient donc confrontés à de nombreux alloantigènes au cours du traitement et risquent une allosensibilisation.

Or, les diabétiques de type 1, développant des micro et macro-angiopathies, sont susceptibles d'évoluer vers une insuffisance rénale chronique terminale et de nécessiter à plus ou moins long terme, après un échec ou une réussite des greffes, une transplantation rénale.

Cette technique ne montrerait-elle pas alors ses limites en empêchant ces patients de bénéficier d'une greffe de rein et de les contraindre à être éternellement dialysés ?

6 Accessibilité à la greffe de rein des patients greffés d'îlots^{XXV}

La transplantation est un moyen radical pour prolonger la durée de vie des patients ou tout simplement améliorer leur qualité de vie.

Cependant, les greffons sont rares, et prélevés sur des patients décédés, leur valeur est inestimable.

L'attribution se doit donc de respecter un protocole strict, afin de garantir efficacité et éthique pour améliorer au niveau national la qualité des soins.

On en arrive alors à l'objectif de cette étude. Les différentes greffes d'îlots ont-elles un impact sur l'accès à la greffe de rein ?

Trois situations pour chaque patient sont étudiées.

Première situation :

Etat du patient avant la première injection d'îlots

Pré-greffe

Deuxième situation :

Etat du patient après la dernière injection d'îlots

Post-greffe

Troisième situation :

Etat du patient après la dernière injection et en considérant les antigènes des donneurs comme des antigènes interdits.

Post-greffe + MM

6.1 Préambule sur l'allocation d'un greffon

Le Taux de Greffons Incompatibles (TGI) correspond au taux de greffons rénaux contre lesquels un receveur considéré aurait présenté des anticorps ou antigènes interdits parmi l'ensemble de greffons rénaux de même groupe sanguin que le receveur, prélevés sur l'ensemble du territoire national au cours des cinq dernières années et utilisés pour une greffe rénale effective.

Si ce TGI est supérieur à 85%, alors une priorité peut être accordée. En fonction du niveau du TGI, et selon le degré de compatibilité HLA avec le donneur, un receveur hyper-immunisé peut :

- se voir proposer des greffons à zéro incompatibilité (priorité nationale hyper-immunisé Full Match H3FM)
- se voir proposer des greffons à une incompatibilité HLA (H3)
- entrer dans le programme antigène permis (HAP) si son dossier immunologique est à jour et complet, avec indication des antigènes permis.

L'indicateur de Facteur d'Accessibilité à la Greffe (FAG) correspond au nombre de donneurs potentiels pour un receveur à moins de trois incompatibilités HLA, de même groupe sanguin, et sans antigènes interdits parmi l'ensemble des donneurs prélevés au cours des cinq dernières années dans la ZIPR d'inscription. Le FAG est donc une donnée reflétant la facilité d'accès à la greffe. On peut aussi le voir comme un flux de donneurs potentiels bien apparié. Plus un patient a un FAG élevé, plus il est facile à appairer immunologiquement, et plus il peut se voir accorder de greffons.

Ces données pour chaque patient, dans chaque situation, sont calculées par l'ABM à partir des données du registre Cristal.

6.2 Règles d'allocation des greffons rénaux

Le premier rein prélevé est attribué à un malade de la liste locale en fonction de son rang de classement au score. Il est à noter que ce score n'est qu'une aide au choix, les équipes de greffe pouvant y déroger.

Le deuxième rein est attribué en fonction d'un score interrégional. Les propositions suivent un ordre décroissant et une équipe ne peut que l'accepter ou le refuser. Cette attribution se fait en l'absence de priorités définies suivant des critères d'urgence, de difficultés prévisibles d'accès à la greffe (immunologie, groupe rare).

En l'absence de catégories prioritaires, certaines personnes ne pourraient jamais bénéficier de greffons vu leur faible nombre.

C'est pourquoi il existe des priorités d'allocation suivant des critères immunologiques. Il faut retenir que la « priorisation » de ces malades peut accélérer leur accès à la greffe, mais dans des conditions plus à risque (moins bon appariement immunologique).

6.2.1 Calcul du score d'allocation

Le score permettant l'attribution d'un greffon repose sur différentes composantes, chacune étant pondérée selon la ZIPR.

6.2.1.1 Les composantes

- La durée d'attente ($DATT_r$)

La durée d'attente est un critère non négligeable. Les greffons sont rares et maintenir une vie correcte est plus ou moins difficile.

Le score attribue donc des points en fonction de la durée d'attente.

- La durée de dialyse ($DDIAL_r$)

La dialyse est à chaque fois une épreuve, et l'insuffisance rénale terminale diminue fortement la durée de vie.

- L'appariement HLA ($HLA[A;B]_{r-d}$ et $HLA[DR]_{r-d}$)

La relation entre compatibilité tissulaire et résultat à long terme de la greffe a été clairement définie, c'est pourquoi le score accorde des points au receveur en fonction de sa compatibilité avec le donneur.

- L'appariement en âge ($DifAGE_{r-d}$)

On ne peut pas vraiment parler de compatibilité d'âge, cependant, il apparaît évident que la durée de vie du greffon soit étudiée. La durée de vie potentiellement la plus longue du greffon est attribuée aux patients ayant la plus grande espérance de vie. Le score attribue donc des points en fonction de la différence d'âge du couple receveur – donneur.

- L'indicateur FAG (FAG_r)

6.2.1.2 Les incréments

Ils sont différents en fonction de la ZIPR. Seront notés ceux de la ZIPR Nord, mis en place en juillet 2010.

$$\begin{aligned}
 \text{Score} = & \quad 500 * f_1 && (DATT_r) \\
 & + \quad 100 * f_{1'} && (DDIAL_r) \\
 & + \quad 200 * f_2^{(1)} && (HLA[A;B]_{r-d}) \\
 & + \quad 400 * f_2^{(2)} && (HLA[DR]_{r-d}) \\
 & + \quad 300 * f_{3'} && (DifAGE_{r-d}) \\
 & + \quad 300 * f_5 && (FAG_r)
 \end{aligned}$$

Avec f_i compris entre 0 et 1.

f_i est égal à 1 pour ce qui est de la durée d'attente et de la durée de dialyse si elles sont égales à 10 ans.

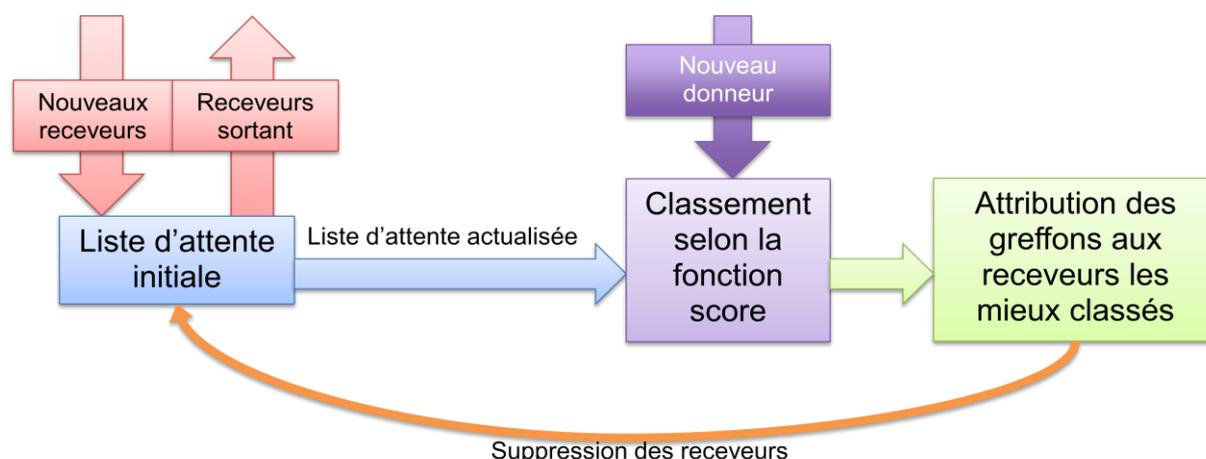
On remarque avec cette formule que certaines composantes sont bien plus importantes que d'autres... On note aussi que l'appariement HLA[DR] est plus important que l'appariement HLA[A;B], et ce dans le but de préserver le capital immunologique pour le futur.

6.3 Plate-forme de simulation

Elle est utilisée dans notre étude afin de répondre à l'interrogation sur l'accès à la greffe. Développée par l'Agence de BioMédecine, elle a pour but d'accompagner les évolutions des règles d'allocation afin d'anticiper leurs impacts.

Elle reprend les actions régissant l'évolution réelle de la liste d'attente et du prélèvement d'organe.

Figure 17 : Schéma du modèle de simulation



La liste d'attente est en perpétuel changement, au gré des nouvelles inscriptions et des sorties de liste (figure 17).

Si un greffon se présente, alors les receveurs potentiels, c'est-à-dire sans antigène interdit et du même groupe sanguin que le donneur, sont classés et le greffon est attribué au patient avec le plus haut score.

C'est la base Cristal de l'ABM qui est utilisée pour l'étude nous concernant. Elle contient les patients en attente rénale, mais également les donneurs prélevés et greffés.

La simulation s'établit du 1^{er} mai 2007 au 30 juin 2011 (l'organisation géographique étant différente avant cette date).

Figure 18 : Effectifs durant la période de simulation 1^{er} mai 2007 - 30 juin 2011

| | | Patients de l'étude | | Patients en attente | | Nouveaux patients inscrits | | Greffons | |
|----------------|-------|---------------------|----|---------------------|----|----------------------------|----|----------|----|
| Effectif | | n | % | n | % | n | % | n | % |
| Sexe | homme | 7 | 50 | 242 | 62 | 605 | 37 | 673 | 60 |
| | femme | 7 | 50 | 151 | 38 | 1032 | 63 | 445 | 40 |
| Groupe sanguin | A | 8 | 57 | 103 | 26 | 692 | 42 | 477 | 43 |
| | B | 1 | 7 | 61 | 16 | 175 | 11 | 101 | 9 |
| | AB | 0 | 0 | 11 | 3 | 63 | 4 | 36 | 3 |
| | O | 5 | 36 | 218 | 55 | 707 | 43 | 504 | 45 |
| FAG | | 78 | | 37 | | 58 | | - | |

On peut donc observer que le 1^{er} mai 2007, 393 patients étaient déjà en attente d'une greffe de rein. De cette date jusqu'au 30 juin 2011, 1637 nouveaux patients se sont ajoutés à cette liste, en plus de nos 14 patients. Au cours de cette période, 1118 greffons ont été alloués.

La population représentée par les patients de l'étude est trop faible pour l'interpréter statistiquement dans ce tableau. Par contre, on peut remarquer que dans les autres colonnes, les effectifs de groupe sanguin diffèrent. On peut expliquer par exemple la

supériorité des groupes sanguins B et O chez les patients en attente par la moins grande distribution de ces groupes au sein de la population générale.

De même, le FAG des patients en attente est bien inférieur. Cela s'explique par la difficulté de greffer certains patients hyperimmunisés, ces derniers restant dans la liste malgré les mesures de « priorisation », et grèvent le FAG moyen général.

6.4 Données des patients

Dans cette partie seront exposés les différentes données acquises au laboratoire d'Immunologie^{xxvi} et le résultat du calcul du FAG provenant de l'ABM de Paris^{xxvii}.

6.4.1 Patient numéro 1

Homme de 49 ans, de groupe sanguin A

Détermination de son HLA :

| HLA receveur | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|--------------|--------------|-------|--------------|-------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 26 | 44 | *1301 | *0603 |
| 66 | 63 | *1201 | *03 | |

La recherche d'allo-anticorps se révèle négative pour les 30 échantillons de HLA étrangers par LCT.

| HLA donneur 1 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|---------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 24 | 52 | *14 | *05 |
| 29 | 44 | *07 | *02 | |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 2 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|---------------|--------------|---|--------------|--|
| | A | B | DR | |
| | 1 | 8 | 11 | |
| 24 | 18 | | | |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 3 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|---------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 1 | 8 | *17 | *02 |
| 23 | 44 | *07 | | |

Cross-match négatif donc injection...

Tous les dépistages se révéleront négatifs par la suite.

3 ans après la dernière greffe, le beta-score est de 7.

La fonction primaire du greffon est totale.

Calcul de FAG

| | |
|-----------------------------|----|
| FAG pré-greffe | 58 |
| FAG post-greffe | 58 |
| FAG post-greffe + MM | 30 |

On observe donc un delta négatif de 28 points.

6.4.2 Patient numéro 2

Femme de 57 ans, de groupe sanguin A

Détermination de son HLA :

| HLA receveur | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|-----------------|--------------|---|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 1 | 8 | | |
| 2 | 62 | | | |

La recherche d'allo-anticorps se révèle négative pour les 30 échantillons de HLA étrangers par LCT.

| HLA donneur 1 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|------------------|--------------|----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 2 | 47 | 15 | 6 |
| 11 | 62 | 13 | 6 | |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 2 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|------------------|--------------|---|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 2 | 7 | 15 | 6 |
| 31 | 27 | 8 | 4 | |

Cross-match négatif donc injection...

3 ans et 6 mois après la première greffe, on commence à voir apparaître une faible positivité lors de la recherche d'allo-anticorps de classe 1 par la méthode sensible Luminex sans spécificité déterminée.

3 ans après la dernière greffe, le beta-score est de 4.

La fonction primaire du greffon est partielle.

Calcul de FAG

| | |
|-----------------------------|-----|
| FAG pré-greffe | 121 |
| FAG post-greffe | 121 |
| FAG post-greffe + MM | 56 |

On observe donc un delta négatif de 65 points.

6.4.3 Patient numéro 3

Homme de 52 ans, de groupe sanguin A

Détermination de son HLA :

| HLA receveur | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|--------------|--------------|-------|--------------|-------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 1 | 8 | *0701 | *0201 |
| 30 | 13 | *0901 | *0303 | |

La recherche d'allo-anticorps se révèle négative pour les 30 échantillons de HLA étrangers par LCT.

| HLA donneur 1 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|---------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 2 | 35 | *03 | |
| 68 | 44 | *04 | | |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 2A et 2B | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|----------------------|--------------|----------|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 1 et 2 | 8 et 7 | 3 et 12 | |
| 11 et 3 | 55 et 35 | 12 et 15 | | |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 3 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|---------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 1 | 44 | *07 | *02 |
| 24 | 18 | *12 | *03 | |

Cross-match négatif donc injection...

Environ 3 ans et 6 mois après la première greffe, on voit apparaître une positivité lors de la recherche d'allo-anticorps de classe 1 et de classe 2 par la méthode sensible Luminex (pas par LCT).

Spécificités classe 1 :

A2, A68, A3, A11

Spécificités classe 2 :

DR11, DR12, DR5, DR1, DR18, DR3, DR4, DR13, DR14, DR6, DR8, DR15, DR16, DR2

Antigènes permis :

DR1, DR103, DR10, DQ4, DQ5, DQ6, DQ1, DQ7, DQ8, DQ9

3 ans après la dernière greffe, le beta-score est de 1.

La fonction primaire du greffon est nulle.

Calcul de FAG

| | |
|-----------------------------|----|
| FAG pré-greffe | 39 |
| FAG post-greffe | 39 |
| FAG post-greffe + MM | 5 |

On observe donc un delta négatif de 34 points.

6.4.4 Patient numéro 4

Femme de 60 ans, de groupe sanguin O

Détermination de son HLA :

| HLA receveur | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|--------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 24 | 13 | *03 | *02 |
| 30 | 18 | *04 | *03 | |

Contrairement aux trois patients précédents, avant sa première greffe, la patiente 4 est immunisée.

En effet la positivité en LCT est révélée sur 13 échantillons parmi 30.

La méthode sensible Luminex révèle les spécificités suivantes :

Spécificités classe 1 :

A25 A26 A34 A66 A10 A80 A68 A69 A28 A31 A2 A43 A1 A33 A36 A74 A29 A11 A32 A3B62 B63 B15 B76 B49 B50 B21 B44 B45 B12 B64 B51 B52 B5 B38 B39 B16 B59 B71 B72 B70 B77 B75 B78 B57 B58 B17 B35 B53 B46 B54 B55 B56 B22 B27 B82 B67 B8 B41 B60 B61 B40 B73 B42 B7 B48 B81

Spécificités classe 2 :

DR15 DR16 DR2 DR7 DR10 DR11 DR12 DR5 DR9 DR13 DR8 DR1 DR103 DQ4 DQ5 DQ6 DQ1

Antigènes permis :

A23 A9 B47 B37 B65 DR17 DR18 DR14 DQ8 DQ9

| HLA donneur 1 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|---------------|--------------|----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 2 | 62 | *04 | *03 |
| | 44 | | | |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 2 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|---------------|--------------|---|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 1 | 8 | 2 | |
| 24 | 40 | 4 | | |

Cross-match négatif en T, et positif en B, injection...

| HLA donneur 3 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|------------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 1 | 8 | *15 | *06 |
| | 35 | *13 | *06 | |

Cross-match négatif en T, et positif en B, injection...

Lors du dernier dépistage par LCT, une positivité est présente pour 5 tests sur 30.
L'étude Luminex montre alors les spécificités suivantes :

Spécificités classe 1 :

A31 A68 A69 A28 A43 A25 A26 A34 A66 A10 A33 A2 A29 A1 A74 A36 A11 A32
A3B57 B58 B17 B54 B55 B56 B22 B46 B63 B27 B67 B8 B60 B61 B40 B41 B76 B82
B73 B48 B42 B7 B81

Spécificités classe 2 :

DR9 DR13 DR1 DR11 DR12 DR5 DR8 DR15 DR16 DR2 DR103DQ4 DQ5 DQ6 DQ1

Antigènes permis :

A23A9B47 B38 B39 B16 B64 B65 B14 B71 B72 B70 B37 B62 B59 B49 B50 B21 B51
B52 B5 B77 B44 B45 B12 B78 B75 B35DR14 DR7DR17 DR18 DR10DQ7 DQ8 DQ9

3 ans après la dernière greffe, le beta-score est de 8.
La fonction primaire du greffon est totale.

Calcul de FAG

| | |
|-----------------------------|---|
| FAG pré-greffe | 0 |
| FAG post-greffe | 1 |
| FAG post-greffe + MM | 0 |

La forte immunisation montre que l'accessibilité aux greffes est faible voire nulle pour cette personne quelque soit le moment.

6.4.5 Patient numéro 5

Homme de 42 ans, de groupe sanguin A.

Détermination de son HLA :

| HLA receveur | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|-----------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 1 | 8 | *13hag | *03 |
| 3 | 53 | *04 | *03 | |

Le dépistage d'allo-anticorps par LCT ne montre aucune positivité sur les 30 tests.

| HLA donneur 1 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|------------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 3 | 7 | *15 | *06 |
| | 47 | *13 | *06 | |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 2 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|------------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 24 | 7 | *01 | *02 |
| | 18 | *03 | *05 | |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 3 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|------------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 1 | 51 | *11 | *03 |
| 3 | 14 | *13 | *03 | |

Cross-match négatif donc injection...

Tous les dépistages se révéleront négatifs par la suite.

3 ans après la dernière greffe, le beta-score est de 5.

La fonction primaire du greffon est partielle.

Calcul de FAG

| | |
|-----------------------------|----|
| FAG pré-greffe | 84 |
| FAG post-greffe | 84 |
| FAG post-greffe + MM | 5 |

On observe donc delta négatif de 79 points.

6.4.6 Patient numéro 6

Femme de 46 ans, de groupe sanguin A

Détermination de son HLA :

| HLA receveur | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|-----------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 3 | 7 | *03 | *02 |
| 24 | 60 | *04 | *03 | |

Il n'y a pas de positivité en LCT. On remarque par contre une fluorescence faible par la méthode sensible sans pouvoir déterminer de spécificité.

| HLA donneur 1A 1B | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|-------------------------|--------------|---------|--------------|------------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 2 et 2 | 35 et 7 | *13 et *07 | *06 et *02 |
| 29 et 29 | 60 et 44 | *15 | *01 | |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 2 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|------------------|--------------|----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 2 | 44 | *07 | *02 |
| | 29 | 57 | | *03 |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 3 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|------------------|--------------|---|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 2 | 7 | *01 | *05 |
| | 32 | 8 | *03 | *02 |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 4 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|------------------|--------------|---|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 2 | 7 | *02 | |
| | 3 | | *04 | |

Cross-match négatif donc injection...

Comme lors du 1^{er} dépistage, la LCT ne montre aucune positivité. Seul une faible fluorescence apparaît avec le Luminex, aucune spécificité n'est déterminée.

3 ans après la dernière greffe, le beta-score est de 8.
La fonction primaire du greffon est totale.

Calcul de FAG

| | |
|-----------------------------|----|
| FAG pré-greffe | 90 |
| FAG post-greffe + MM | 90 |
| FAG post-greffe + MM | 4 |

Le FAG diminue donc de 86 points suite aux différentes greffes.

6.4.7 Patient numéro 7

Homme de 40 ans, de groupe sanguin A

Détermination de son HLA :

| HLA receveur | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|-----------------|--------------|----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 2 | 8 | *03 | *02 |
| | 3 | 45 | *04 | *03 |

Le dépistage d'allo-anticorps pré-greffe se révèle négatif.

| HLA donneur 1 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|------------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 2 | 44 | *04 | *03 |
| | 49 | *13 | *06 | |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 2 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|------------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 2 | 44 | *11 | *03 |
| 29 | 37 | *13 | *06 | |

Cross-match négatif donc injection...

Tous les dépistages se révéleront négatifs par la suite.

3 ans après la dernière greffe, le beta-score est de 6.
La fonction primaire du greffon est partielle.

Calcul de FAG :

| | |
|-----------------------------|-----|
| FAG pré-greffe | 133 |
| FAG post-greffe | 133 |
| FAG post-greffe + MM | 86 |

On note une diminution de 47 points du FAG...

6.4.8 Patient numéro 8

Femme de 36 ans, de groupe sanguin O

Détermination de son HLA :

| HLA receveur | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|-----------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 1 | 8 | *01 | *05 |
| 3 | 44 | *04 | *03 | |

Le dépistage d'allo-anticorps pré-greffe se révèle négatif.

| HLA donneur 1 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|------------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 3 | 44 | *07 | *02 |
| 33 | | *11 | *03 | |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 2 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|------------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 1 | 7 | *03 | *02 |
| 24 | 8 | *04 | *03 | |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 3 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|------------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 24 | 18 | *11 | *05 |
| 74 | 55 | *14 | | |

Cross-match négatif donc injection...

Tous les dépistages se révéleront négatifs par la suite.

3 ans après la dernière greffe, le beta-score est de 0.
La fonction primaire du greffon est nulle.

Calcul de FAG :

| | |
|-----------------------------|-----|
| FAG pré-greffe | 110 |
| FAG post-greffe | 110 |
| FAG post-greffe + MM | 32 |

On observe une diminution de 78 points concernant le FAG.

6.4.9 Patient numéro 9

Homme de 61 ans, de groupe sanguin B

Détermination de son HLA :

| HLA receveur | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|-----------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 26 | 35 | *01 | *05 |
| 68 | | *08 | *04 | |

Le dépistage d'alloanticorps pré-greffe se révèle négatif.

| HLA donneur 1 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|------------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 1 | 13 | *07 | *02 |
| 30 | 52 | *11 | *03 | |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 2 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|------------------|--------------|---|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 2 | 7 | *03 | *02 |
| 68 | 8 | | | |

Cross-match négatif donc injection...

Tous les dépistages se révéleront négatifs par la suite.

3 ans après la dernière greffe, le beta-score est de 3.
La fonction primaire du greffon est partielle.

Calcul de FAG :

| | |
|-----------------------------|---|
| FAG pré-greffe | 6 |
| FAG post-greffe | 6 |
| FAG post-greffe + MM | 1 |

On observe une diminution de 5 points du FAG.

6.4.10 Patient numéro 10

Femme de 57 ans de groupe sanguin O

Détermination de son HLA :

| HLA receveur | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|--------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 1 | 8 | *03 | *02 |
| 2 | 62 | *04 | *03 | |

Le dépistage d'allo-anticorps pré-greffe se révèle négatif.

| HLA donneur 1 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|---------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 2 | 57 | *07 | *07 |
| 68 | 60 | *11 | *09 | |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 2 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|---------------|--------------|----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 2 | 44 | *11 | *03 |
| 32 | 39 | | | |

Cross-match négatif donc injection...

Tous les dépistages se révéleront négatifs par la suite.

3 ans après la dernière greffe, le beta-score est de 6.

La fonction primaire du greffon est partielle.

Calcul de FAG :

| | |
|-----------------------------|-----|
| FAG pré-greffe | 124 |
| FAG post-greffe | 124 |
| FAG post-greffe + MM | 46 |

On observe une diminution de 78 points du FAG.

6.4.11 Patient numéro 11

Homme de 38 ans de groupe sanguin O

Détermination de son HLA :

| HLA receveur | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|--------------|--------------|---|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 1 | 8 | *03 | *02 |
| | 18 | | | |

Le dépistage d'allo-anticorps pré-greffe se révèle négatif.

| HLA donneur 1 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|---------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 3 | 44 | *15 | *06 |
| | 29 | *11 | *03 | |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 2A et 2B | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|----------------------|--------------|---------|--------------|------------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 1 et 3 | 51 et 7 | *11 et *0103 | *03 et *05 |
| | 24 et 24 | 18 | *13 et *15 | *06 et *06 |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 3 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|---------------|--------------|----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 3 | 39 | *16 | *05 |
| | 26 | 65 | *07 | *02 |

Cross-match négatif donc injection...

Tous les dépistages se révéleront négatifs par la suite.

3 ans après la dernière greffe, le beta-score est de 6.
La fonction primaire du greffon est partielle.

Calcul de FAG :

| | |
|-----------------------------|----|
| FAG pré-greffe | 57 |
| FAG post-greffe | 57 |
| FAG post-greffe + MM | 5 |

On observe une diminution de 52 points du FAG.

6.4.12 Patient numéro 12

Femme de 51 ans de groupe sanguin A

Détermination de son HLA :

| HLA receveur | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|--------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 3 | 7 | *01 | *05 |
| 31 | 39 | *04 | *03 | |

Le dépistage d'allo-anticorps pré-greffe se révèle négatif.

| HLA donneur 1 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|---------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 2 | 35 | *11 | *03 |
| 3 | 44 | *07 | *02 | |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 2 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|---------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 2 | 27 | *01 | *05 |
| 11 | 44 | *12 | *03 | |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 3 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|---------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 29 | 44 | *04 | *03 |
| | 38 | *13 | *06 | |

Cross-match négatif donc injection...

Le dernier dépistage par méthode sensible montre une positivité aux allo-anticorps de classe 1, mais aucune spécificité ne peut être déterminée.

3 ans après la dernière greffe, le beta-score est de 8.
La fonction primaire du greffon est totale.

Calcul de FAG :

| | |
|-----------------------------|----|
| FAG pré-greffe | 72 |
| FAG post-greffe | 72 |
| FAG post-greffe + MM | 9 |

On observe une diminution de 63 points concernant le FAG.

6.4.13 Patient numéro 13

Femme de 40 ans de groupe sanguin O

Détermination de son HLA :

| HLA receveur | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|--------------|--------------|----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 2 | 65 | *03 | *02 |
| 24 | 18 | | | |

Le dépistage d'allo-anticorps pré-greffe se révèle négatif par la méthode ancestrale (LCT). Cependant, une étude approfondie par la méthode sensible Luminex révèle une positivité avec la classe 2 et les spécificités sont les suivantes :

Spécificités classe 2 :

DR9 DR8 DR103 DR13 DR14 DR6 DR15 DR16 DR2 DR10 DR4 DR11 DR12 DR5 DR1DQ7 DQ4

Antigènes permis :

DR18 DR17 DR7 DQ5 DQ6 DQ1 DQ8

| HLA donneur 1 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|------------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 2 | 7 | *15 | *06 |
| 68 | 72 | *03 | *02 | |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 2 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|------------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 23 | 41 | *13 | *06 |
| | 44 | *09 | *03 | |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 3 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|------------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 1 | 8 | *03 | *02 |
| 2 | 57 | *07 | *03 | |

Cross-match négatif donc injection...

De la même façon qu'au 1^{er} dépistage, la cytofluorométrie révèle la présence d'allo-anticorps de classe 2.

Spécificités classe 2 :

DR103 DR13 DR10 DR4 DR15 DR9 DR12 DR6 DR5 DR11 DR16 DR2 DR1 DR14DQ4

Antigènes permis :

DR17 DR18 DR7 DQ5 DQ6 DQ8 DQ9 DQ7 DQ3 DQ1

3 ans après la dernière greffe, le beta-score est de 8.

La fonction primaire du greffon est totale.

Calcul de FAG :

| | |
|-----------------------------|---|
| FAG pré-greffe | 5 |
| FAG post-greffe | 5 |
| FAG post-greffe + MM | 0 |

On observe une diminution de 5 points du FAG.

6.4.14 Patient numéro 14

Homme de 44 ans de groupe sanguin A

Détermination de son HLA :

| HLA receveur | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|--------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 3 | 8 | *03 | *02 |
| 33 | 44 | *04 | *03 | |

Le dépistage d'allo-anticorps pré-greffe se révèle négatif.

| HLA donneur 1 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|---------------|--------------|---|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 1 | 8 | *03 | *02 |
| 30 | 18 | | | |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 2 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|---------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 1 | 27 | *03 | *02 |
| 3 | 57 | *11 | *03 | |

Cross-match négatif donc injection...

| HLA donneur 3 | HLA classe 1 | | HLA classe 2 | |
|---------------|--------------|-----|--------------|------|
| | A | B | DRB1 | DQB1 |
| | 23 | 44 | *07 | *02 |
| 24 | 63 | *13 | *06 | |

Cross-match négatif donc injection...

Le dernier dépistage montre une positivité avec le Luminex au sujet des anticorps de classe 1 et 2. Le résultat est un PRA aux alentours de 20% avec une spécificité A23, A24, A9, DR7 et DR9.

3 ans après la dernière greffe, le beta-score est de 0.
La fonction primaire du greffon est nulle.

Calcul de FAG :

| | |
|-----------------------------|----|
| FAG pré-greffe | 86 |
| FAG post-greffe | 63 |
| FAG post-greffe + MM | 18 |

On observe une diminution de 68 points du FAG.

6.5 Résultats et interprétation

Dans cette partie, différents états seront comparés.

Il s'agira de comparer à chaque fois deux mesures d'une variable quantitative effectuées sur les mêmes sujets. On utilisera le test non-paramétrique des rangs signés de Wilcoxon pour échantillons appariés.

L'hypothèse nulle H0 signifiant que la différence moyenne entre les deux mesures est nulle.

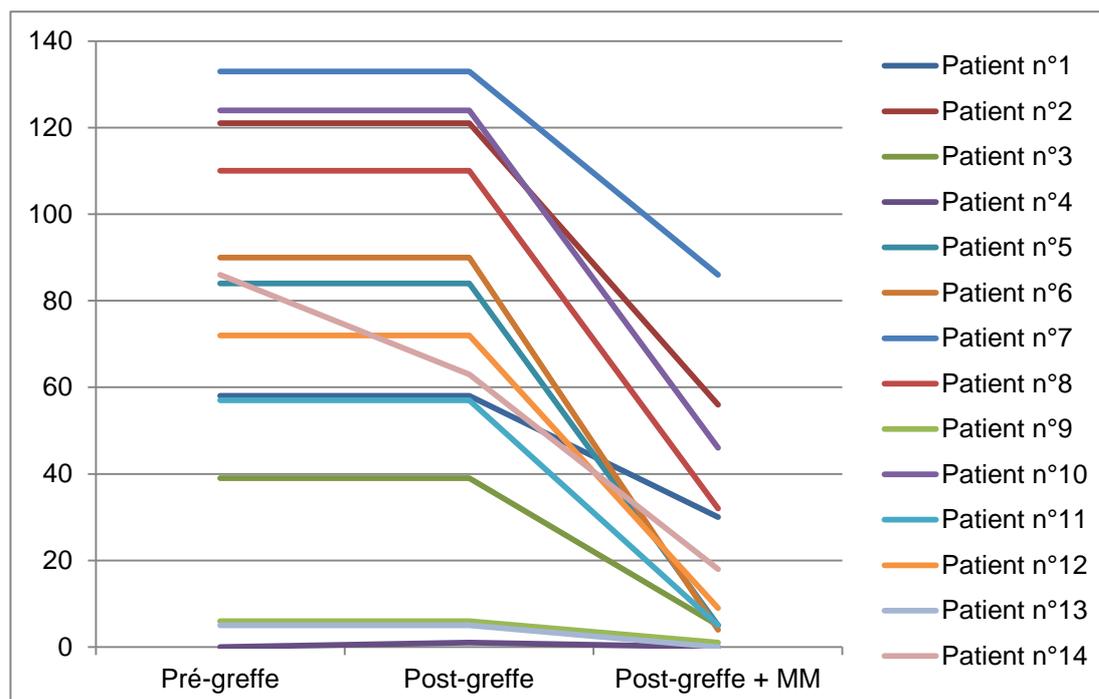
Pour réaliser ce test et calculer « p » (probabilité de rejeter à tort H0), on a utilisé l'application BiostaTGV, après avoir vérifié avec des calculs « à la main » ainsi qu'avec le logiciel reconnu SPSS que les résultats qu'il donnait étaient fiables.

6.5.1 Facteur d'accessibilité aux greffes FAG

Figure 19 : FAG des 14 patients de l'étude

| | Pré-greffe | Post-greffe | Post-greffe + MM |
|--------------|------------|-------------|------------------|
| Patient n°1 | 58 | 58 | 30 |
| Patient n°2 | 121 | 121 | 56 |
| Patient n°3 | 39 | 39 | 5 |
| Patient n°4 | 0 | 1 | 0 |
| Patient n°5 | 84 | 84 | 5 |
| Patient n°6 | 90 | 90 | 4 |
| Patient n°7 | 133 | 133 | 86 |
| Patient n°8 | 110 | 110 | 32 |
| Patient n°9 | 6 | 6 | 1 |
| Patient n°10 | 124 | 124 | 46 |
| Patient n°11 | 57 | 57 | 5 |
| Patient n°12 | 72 | 72 | 9 |
| Patient n°13 | 5 | 5 | 0 |
| Patient n°14 | 86 | 63 | 18 |

Figure 20 : Evolution du FAG



On dispose d'une variable quantitative (le FAG) et de différents échantillons appariés.

Si l'on considère l'état « pré-greffe » et l'état « post-greffe », on remarque que les différences nulles sont très nombreuses (figure 19). Il ne reste que deux différences non-nulles. Il n'existe donc pas de test statistique pour démontrer l'absence de différence significative que l'on voit en observant les résultats (figure 20). On note donc que les FAG sont identiques avant et après injection.

Si l'on considère ensuite l'état « pré-greffe » et l'état « post-greffe + MM », on trouve $p = 0,002$ donc bien inférieur à 0,05. Il y a donc une différence significative dans ce cas.

De même, si l'on considère l'état « post-greffe » et l'état « post-greffe + MM », on trouve $p = 0,001$ donc bien inférieur à 0,05. Il y a donc une différence significative dans ce cas également.

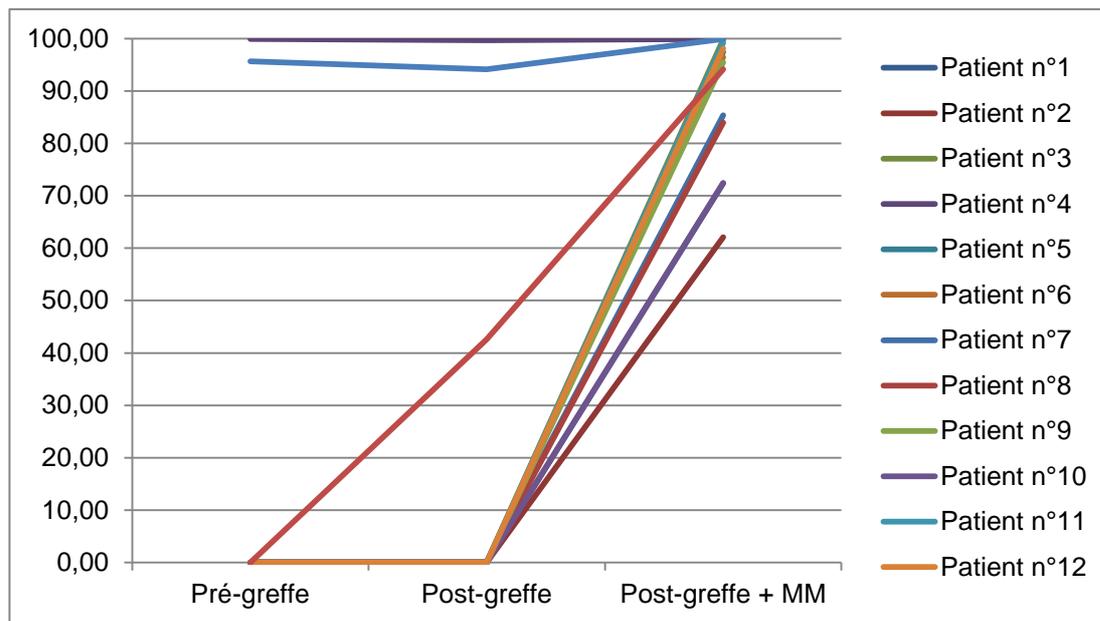
On note alors que la prise en compte des antigènes des donneurs comme interdits diminue fortement le FAG, et donc la probabilité de trouver un greffon bien apparié.

6.5.2 Taux de greffons incompatibles TGI

Figure 21 : TGI des 14 patients de l'étude

| | Pré-greffe | Post-greffe | Post-greffe + MM |
|--------------|------------|-------------|---------------------|
| Patient n°1 | 0,00 | 0,00 | 72,41 |
| Patient n°2 | 0,00 | 0,00 | 62,07 |
| Patient n°3 | 0,00 | 0,00 | 99,77 |
| Patient n°4 | 99,93 | 99,66 | 99,90 |
| Patient n°5 | 0,00 | 0,00 | 97,41 |
| Patient n°6 | 0,00 | 0,00 | 96,43 |
| Patient n°7 | 0,00 | 0,00 | 85,34 |
| Patient n°8 | 0,00 | 0,00 | 83,93 |
| Patient n°9 | 0,00 | 0,00 | 95,45 |
| Patient n°10 | 0,00 | 0,00 | 72,43 |
| Patient n°11 | 0,00 | 0,00 | 99,19 |
| Patient n°12 | 0,00 | 0,00 | 98,07 |
| Patient n°13 | 95,63 | 94,13 | 99,90 |
| Patient n°14 | 0,00 | 42,57 | 94,14 |

Figure 22 : Evolution du TGI



En observant la figure 21, au stade « pré-greffe », deux patients (patient n°4 et patient n°13) ont un taux de greffons incompatibles important, au point de les classer comme hyper-immunisés et de les rendre éligibles à certaines priorités (TGI > 85%). Au stade « post-greffe », un seul patient (patient n°14) voit son TGI grimper à 42,57%, il s'immunise donc sans pouvoir prétendre au statut d'hyper-immunisé.

Comme pour le FAG, les différences entre ces deux stades ne sont pas testables statistiquement, les différences nulles étant bien trop présentes. On ne peut que dire instinctivement, que les greffes n'augmentent pas le TGI de manière général (figure 22).

Cependant lorsque l'on considère le troisième état, c'est-à-dire avec les antigènes des donneurs interdits, on obtient par un test de Wilcoxon un $p = 0,0002$ (donc p largement inférieur à 0,05) en comparant le stade « pré-greffe » et le stade « post-greffe + MM ». La différence est donc significative.

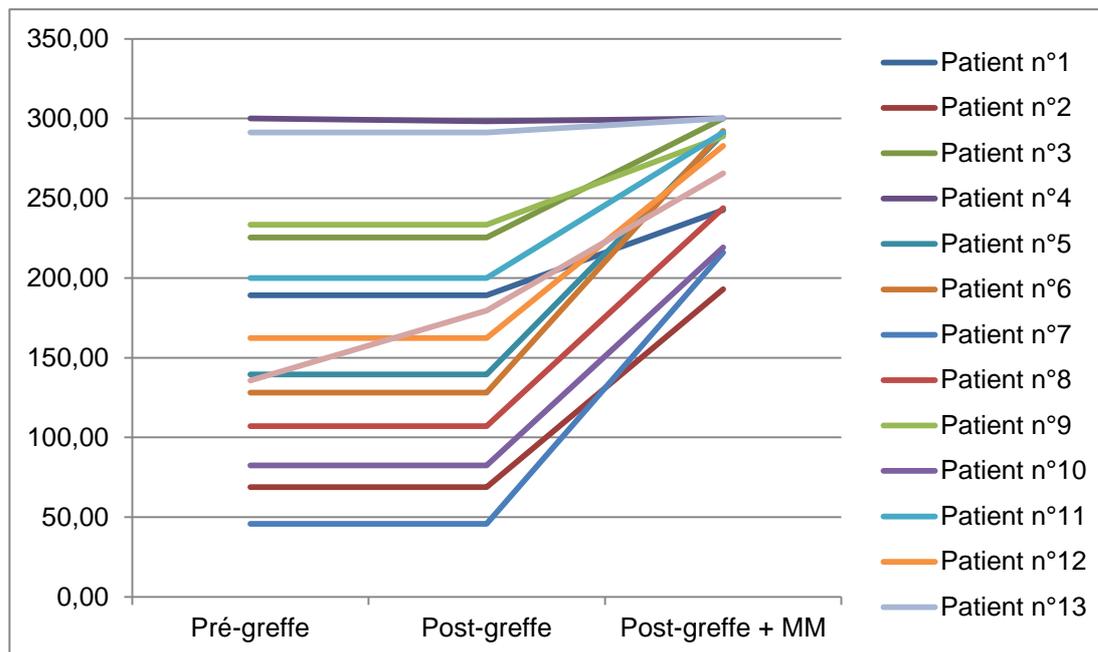
En considérant les antigènes HLA des donneurs, le TGI des receveurs augmente systématiquement, de façon significative, au point que 8 patients (numéros 3, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 14) en plus des patients n°4 et 13 se retrouvent dans la catégorie des malades hyper-immunisés.

6.5.3 Composante FAG

Figure 23 : Composante f_5 (FAG_r) des patients de l'étude

| | Pré-greffe | Post-greffe | Post-greffe + MM |
|--------------|------------|-------------|------------------|
| Patient n°1 | 189,17 | 189,17 | 242,68 |
| Patient n°2 | 68,79 | 68,79 | 192,99 |
| Patient n°3 | 225,48 | 225,48 | 300,00 |
| Patient n°4 | 300,00 | 298,25 | 300,00 |
| Patient n°5 | 139,49 | 139,49 | 290,45 |
| Patient n°6 | 128,03 | 128,03 | 292,36 |
| Patient n°7 | 45,86 | 45,86 | 215,92 |
| Patient n°8 | 107,02 | 107,02 | 243,86 |
| Patient n°9 | 233,33 | 233,33 | 288,89 |
| Patient n°10 | 82,46 | 82,46 | 219,30 |
| Patient n°11 | 200,00 | 200,00 | 291,23 |
| Patient n°12 | 162,42 | 162,42 | 282,80 |
| Patient n°13 | 291,23 | 291,23 | 300,00 |
| Patient n°14 | 135,67 | 179,62 | 265,61 |

Figure 24 : Evolution de la f_5 (FAG_r)



Comme on peut le constater sur le graphique ci-dessus (figure 24), en comparant les états « post-greffe » et « post-greffe + MM », on obtient un p égal à 0,001 inférieur à 0,05, la composante FAG augmente significativement pour tous les patients, tendant d'ailleurs à rapprocher les malades entre eux en réduisant les écarts. Ce phénomène est logique puisque recherché.

En effet, la composante FAG existe dans le but de compenser la faiblesse du FAG chez certains patients et donc le faible nombre de donneurs potentiels bien appariés.

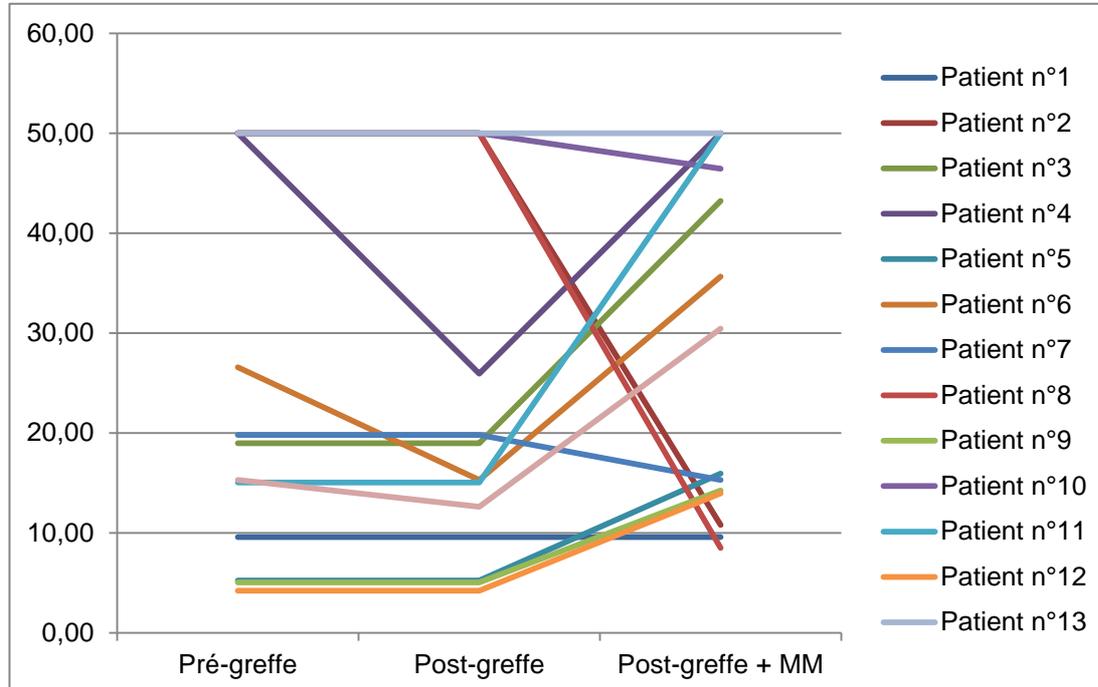
Plus le FAG est bas, plus la composante FAG attribue de points, et ce dans le but de leur permettre un accès à la greffe plus aisé.

6.5.4 Accès à la greffe et durée d'attente

Figure 25 : Durée d'attente en mois des patients de l'étude

| | Pré-greffe | Post-greffe | Post-greffe + MM |
|--------------|------------|-------------|------------------|
| Patient n°1 | 9,57 | 9,57 | 9,57 |
| Patient n°2 | 50,00 | 50,00 | 10,79 |
| Patient n°3 | 18,98 | 18,98 | 43,21 |
| Patient n°4 | 50,00 | 25,93 | 50,00 |
| Patient n°5 | 5,25 | 5,25 | 15,93 |
| Patient n°6 | 26,56 | 15,31 | 35,64 |
| Patient n°7 | 19,80 | 19,80 | 15,31 |
| Patient n°8 | 50,00 | 50,00 | 8,49 |
| Patient n°9 | 5,05 | 5,05 | 14,26 |
| Patient n°10 | 50,00 | 50,00 | 46,43 |
| Patient n°11 | 15,05 | 15,05 | 50,00 |
| Patient n°12 | 4,20 | 4,20 | 13,97 |
| Patient n°13 | 50,00 | 50,00 | 50,00 |
| Patient n°14 | 15,31 | 12,62 | 30,43 |

Figure 26 : Evolution de la durée d'attente en mois des patients de l'étude



On l'a vu, durant la période de l'étude, 1118 greffons ont été prélevés. Un des quatorze patients peut être greffé si son score pour l'un des greffons est le plus élevé parmi la liste de tous les malades en attente.

Les patients ayant une durée d'attente de 50 mois (figure 25) sont ceux qui n'ont pas bénéficié de rein, ce temps correspondant à la durée totale de l'étude.

On peut remarquer qu'avant la greffe d'îlots, 9 patients auraient pu bénéficier d'une greffe de rein.

On peut expliquer l'absence de greffes chez les 5 autres patients par les raisons suivantes :

3 patients (n°2, 8 et 10) ont un FAG élevé mais également un phénotype HLA fréquent. La forte concurrence est donc prédominante sur la facilité d'appariement. Pour les deux autres patients (n°4 et 13), ce sont des malades très immunisés pour lesquels même la « priorisation » ne leur permet de trouver un greffon compatible durant cette période.

En situation « post-greffe », 10 patients sur 14 auraient pu bénéficier d'une greffe de rein, soit un patient de plus (patient n°4). Cela est dû à une modification de ses antigènes interdits.

On constate également une diminution de la durée d'attente pour le patient 14. Ce phénomène s'explique par l'augmentation de la composante FAG permettant une augmentation du score d'allocation.

Pour le scénario « post-greffe + MM », un nouveau patient (n°2) peut bénéficier d'un greffon.

Grâce à la composante FAG, malgré l'immunisation plus importante, en prenant en compte les antigènes HLA des donneurs, au moins autant de patients peuvent bénéficier d'une greffe de rein. Cela dit, il est important de noter que les délais d'attente paraissent augmenter de par la difficulté d'appariement...

Au cas par cas

Les patients n°4 et 13 ont le même profil. Ils étaient très immunisés avant la greffe et le sont toujours après. Il apparaît donc normal qu'ils ne trouvent pas de greffon.

Le patient n°1 ne subit aucune modification d'allocation, quelque soit le scénario. On peut l'expliquer par un appariement HLA ainsi qu'un appariement en âge très favorable. Il reste donc premier de la liste pour bénéficier de ce greffon.

La durée d'attente ne varie pas fortement en ce qui concerne les patients n°6 et 7 malgré une nette diminution du FAG.

On peut ensuite regrouper les patients n°5, 9, 12, et 14 qui avaient un FAG moyen à faible (environ 80 à 6), avec un accès à la greffe raisonnable (5 à 15 mois). On constate une augmentation des délais d'environ un an lorsque l'on considère l'état avec prise en compte des antigènes HLA des donneurs.

Les patients 2 et 8 sont des patients qui voient leur durée d'attente paradoxalement diminuer avec la prise en compte des antigènes des donneurs. En effet, ils possédaient des FAG élevés (respectivement 121 et 110) mais n'auraient pas pu être greffés durant l'étude. A l'état « post-greffe + MM », leur FAG devient moyen (56 et 32), mais ils peuvent bénéficier d'un greffon dans un délai d'environ 10 mois grâce à la composante FAG.

Pour le patient 10, son FAG varie comme précédemment en passant de 124 à 46. Cependant il peine davantage à trouver un greffon compatible puisque ce n'est que 46 mois après qu'il peut être greffé.

Enfin, pour le patient n°3, considérer les antigènes HLA des donneurs augmente nettement sa durée d'attente (presque deux ans). En cause son phénotype HLA rare (FAG à 39 sans immunisation) qui l'empêche de s'apparier facilement.

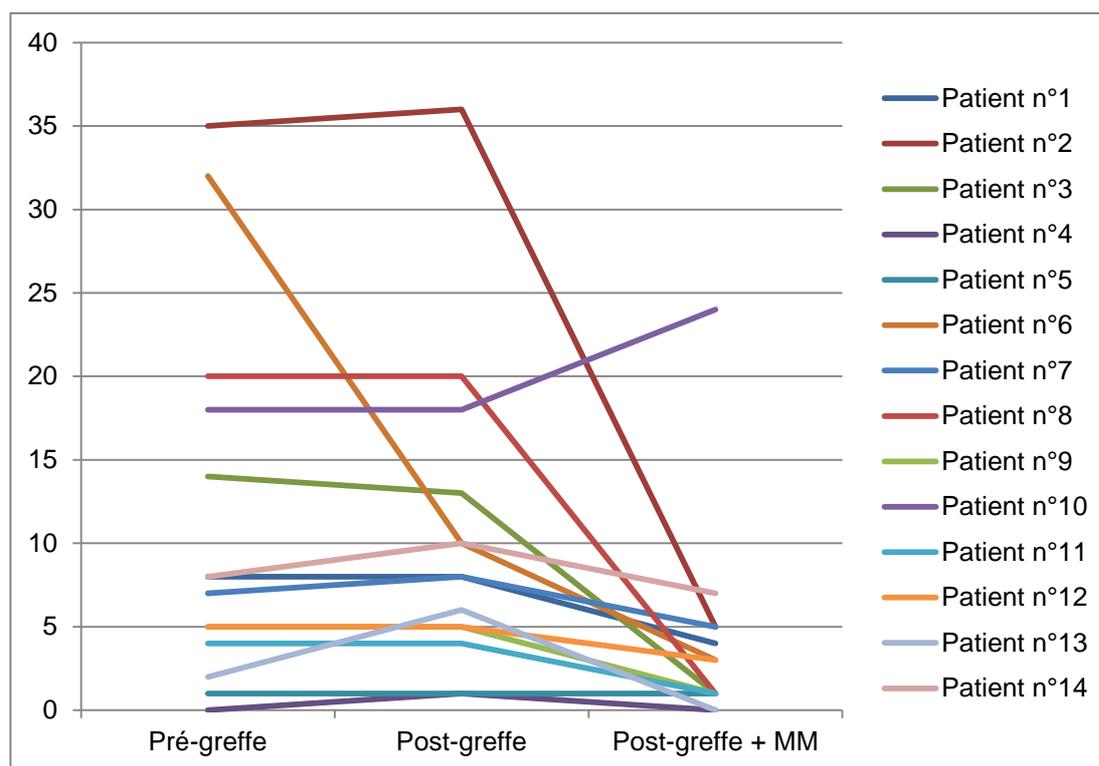
6.5.5 Apparitions dans le TOP 10

Dans cette simulation, le greffon est attribué au malade ayant le score le plus élevé. Mais ce n'est pas pour autant que le greffon soit greffé systématiquement au malade en tête de liste. Il est pour diverses raisons parfois réattribué. C'est pourquoi il est intéressant d'étudier le nombre d'apparitions TOP 10 qui reflète une vraie probabilité de se voir attribuer un greffon.

Figure 27 : Nombre d'apparitions annuelles dans le TOP 10 des patients de l'étude

| | Pré-greffe | Post-greffe | Post-greffe + MM |
|--------------|------------|-------------|---------------------|
| Patient n°1 | 8 | 8 | 4 |
| Patient n°2 | 35 | 36 | 5 |
| Patient n°3 | 14 | 13 | 1 |
| Patient n°4 | 0 | 1 | 0 |
| Patient n°5 | 1 | 1 | 1 |
| Patient n°6 | 32 | 10 | 3 |
| Patient n°7 | 7 | 8 | 5 |
| Patient n°8 | 20 | 20 | 1 |
| Patient n°9 | 5 | 5 | 1 |
| Patient n°10 | 18 | 18 | 24 |
| Patient n°11 | 4 | 4 | 1 |
| Patient n°12 | 5 | 5 | 3 |
| Patient n°13 | 2 | 6 | 0 |
| Patient n°14 | 8 | 10 | 7 |

Figure 28 : Evolution du nombre d'apparitions annuelles dans le TOP 10



On peut d'ores et déjà noter que ce graphique (figure 28) tend à ressembler au graphique présentant l'évolution des FAG (figure 20).

En comparant les états « pré-greffe » et « post-greffe » de la figure 27, le test de Wilcoxon nous indique $p = 0,491$ (donc $p > 0,05$). On n'observe donc pas de différences significatives concernant le nombre d'apparitions dans le TOP 10.

Par contre, en comparant les états « pré-greffe » versus « post-greffe + MM » ou « post-greffe » versus « post-greffe + MM », on ne peut que constater les différences significatives avec respectivement $p = 0,017$ et $p = 0,011$.

On voit donc que la prise en compte des antigènes HLA des donneurs diminue le nombre d'apparitions dans le TOP 10. Cela concorde avec un nombre de donneurs potentiels inférieur.

Pourtant, c'est à l'état « post-greffe + MM » qu'il y a le plus de patients greffés. On peut donc dire que les patients ont moins de propositions mais que lorsqu'ils en ont, ils sont plus souvent premiers au classement.

7 Discussion - Conclusion

On l'a vu, les patients souffrant de diabète de type 1 ne sont pas rares. Si certains diabètes insulino-dépendants peuvent être équilibrés par des injections d'insuline ponctuelles ou continues via une pompe, d'autres échappent à ce traitement et ne maintiennent pas une glycémie satisfaisante.

L'obtention d'une sécrétion endogène d'insuline apparaît comme une solution intéressante pour équilibrer le plus finement possible la glycémie. La transplantation de pancréas existe, mais c'est une opération délicate, cet organe étant très sensible, et ce dernier assurant d'autres fonctions que la sécrétion d'insuline.

La « simple » greffe des îlots pancréatiques assurant la synthèse de l'hormone désirée apparaît alors être une alternative intéressante.

On en est toujours au stade de l'étude clinique mais la technique semble être au point. Quelques équipes dans le monde travaillent dessus afin de l'améliorer jour après jour, sans pour autant changer les grandes lignes.

Les résultats prometteurs de l'équipe lilloise^{xxviii} (cf les résultats de l'équipe lilloise décrits précédemment) incitent à continuer dans ce sens. Surtout que cette greffe est incomparablement moins risquée qu'une transplantation totale d'organe.

On le sait, la technique fonctionne : 8 patients sur les 14 inclus dans notre étude sont encore totalement insulino-indépendants 3 à 4 ans après la dernière greffe. Ces résultats positifs confirment ceux de l'étude publiée par l'équipe d'Edmonton^{xxix}.

Cependant, on peut encore se poser quelques questions concernant les potentiels effets néfastes de cette alternative thérapeutique.

L'immuno-suppression inhérente à toute greffe ne peut qu'être prise au sérieux.

De plus, l'augmentation du risque infectieux ainsi que l'augmentation de l'incidence des cancers sont connues, même si le protocole sans usage de corticoïdes^{xxx} est un atout pour la tolérance du traitement.

Enfin, il existe un risque théorique d'immunisation, sachant qu'un receveur peut se voir infuser jusque 4 préparations cellulaires, venant de 4 donneurs différents, et donc être au contact de 4 HLA différents.

L'objectif est donc d'étudier et de documenter ce risque d'immunisation en analysant les sérums des 14 patients à différents moments (avant la greffe, après la greffe, et après la greffe en considérant les antigènes des donneurs comme interdits), afin de prévoir les conséquences sur une éventuelle greffe de rein.

On dispose pour cela d'un indicateur de facteur d'accessibilité à la greffe appelé FAG, reflétant un flux de donneurs bien appariés. Plus il est élevé, plus le patient est facile à appairer immunologiquement et plus il peut bénéficier de greffons. Intégré à la plate-forme de simulation de l'ABM, il permet, avec d'autres indicateurs, de révéler la disponibilité de greffons en France et de modéliser leur attribution.

Comme on peut le voir sur les figures 19 et 20, le FAG diminue significativement lorsque l'on considère les antigènes des donneurs comme interdits. Cet indice souligne l'immunisation post-greffe suite à l'arrêt des immuno-suppresseurs. Cette dernière apparaît, comme prévu, proportionnelle au nombre de donneurs d'îlots.

Sur les figures 25 et 26, la diminution du FAG semble impacter la durée d'attente d'un rein en l'allongeant.

La modélisation de l'Agence de BioMédecine permet donc d'établir deux scénarios. Un scénario correspondant à l'état « post-greffe » que l'on pourrait appeler « best scenario » et un scénario correspondant à l'état « post-greffe + MM » que l'on pourrait alors appeler « worst scenario ».

Pour différentes raisons présentées ci-après, la réalité se situe entre les deux scénarios.

Si l'on se situe à l'état « post-greffe », c'est-à-dire « aujourd'hui », on constate que le FAG ne se voit pas modifié et que l'accès à la greffe ne l'est pas non plus réellement, sachant que 11 patients sur 14 sont toujours sous immuno-suppresseurs. Cependant, la situation peut changer. Certains patients pourraient nécessiter une greffe de reins d'ici quelques années en ayant arrêté l'immuno-suppression...

Ensuite, le « worst scenario » considère que tous les patients ont arrêté le traitement, et que tous se sont immunisés. Or, nos données montrent que ce n'est pas tout à fait le cas. Effectivement, 3 patients (n°3, 8 et 14), avec une fonction primaire du greffon nulle ont arrêté l'immuno-suppression. Sur ces 3 patients, un est totalement immunisé, un autre partiellement, et enfin le dernier nullement.

De plus, les calculs de l'ABM n'intègrent pas dans cette étude l'existence des antigènes permis qui, de façon logique, améliorent les chances d'accès à la greffe de rein.

A la fin de cette étude, on note donc que le risque de diminution d'accès à la greffe reste modéré car si le flux de donneurs potentiels diminue de façon non négligeable lorsque l'on considère les antigènes des donneurs comme interdits, on est loin d'être réellement au stade du « worst scenario ». De plus, le système français des greffes fait que malgré ces potentielles immunisations, en accordant certaines priorités aux hyper-immunisés, la majorité des patients étudiés pourrait accéder à une greffe. Pour autant, il ne faut pas négliger le fait que la durée d'attente pourrait être allongée, et que l'appariement HLA serait moins bon. Enfin, n'oublions pas que dans tout traitement, on évalue le rapport bénéfices/risques. Si la greffe d'îlots peut diminuer de façon plus ou moins importante (selon les jugements) les possibilités d'accès à un rein, elle augmente de façon non discutable la qualité de vie des patients.

Ce risque relatif peut certainement être minimisé.

En effet, qu'en est-il de la situation après une greffe d'îlots unique ? L'article récent de novembre 2011 paru dans *Cell Transplant*^{xxxi} évoque la diminution de l'allo-sensibilisation en ne greffant les patients avec les cellules que d'un seul donneur. Une mono-greffe est-elle plus intéressante s'il s'agit de greffer un rein par la suite ? Quelles sont alors les stratégies permettant de ne greffer qu'avec un isolement cellulaire ?

Après ce constat, il apparaît intéressant d'étudier également l'éventuelle nécessité de sélectionner les donneurs d'îlots sur des critères immunologiques plus poussés afin de diminuer l'immunisation post-greffe...

8 Bibliographie

- ⁱ Infection et diabète *La Revue de Médecine Interne*, Volume 14, Issue 1, Pages 32-38
H. Gin
- ⁱⁱ Lemonde.fr suite à l'article : Couri C, Oliveira M. et al. C-peptide levels and insulin independence following autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed type 1 diabetes mellitus. *Jama* 2009 ; 301(15) : 1573-1579
- ⁱⁱⁱ Department of Pathology. Duke University Medical Center (Etats Unis)
- ^{iv} Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *New England Journal of Medicine* 2000 Jul 27 343(4) : 230-8
- ^v Korsgren O, Lundgren T, Felldin M, et al. Optimising islet engraftment is critical for successful clinical islet transplantation. *Diabetologia* 2008 ; 51(2) : 227-32
- ^{vi} Lamblin A, Tournoy A, Gmyr V, et al. Coagulation activation with intraportal islets of Langerhans transplantation in swine. *Ann Chir* 2001 ; 126(8) : 743-50
- ^{vii} Johansson H, Lukinius A, Moberg L, et al. Tissue factor produced by the endocrine cells of the islets of Langerhans is associated with a negative outcome of clinical islet transplantation. *Diabetes* 2005 ; 54(6) : 1755-62
- ^{viii} Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *New England Journal of Medicine* 2000 Jul 27 ; 343(4) : 230-8
- ^{ix} Laboratoire de culture cellulaire, Faculté de Médecine ERIM 0106 Thérapie cellulaire du diabète
- ^x E.Hermann 2007. Cours d'Immunologie 2007
- ^{xi} D.Male, J.Brostoff, D.B.Roth, I.Roitt. Immunologie. Traduction 7^{ème} édition anglaise Elsevier P L.Masson
- ^{xii} cours-pharmacie.com_CMH
- ^{xiii} Halloran PF. The clinical importance of alloantibody-mediated rejection. *Am J Transplant* 2003 ; 3:639-40
- ^{xiv} Expertise collective. Transplantation d'organes – Quelles voies de recherche ? Synthèse Inserm 2009
- ^{xv} Infectiologie *Le Moniteur et Réanimation* vol 17 n°4 p.407-411
- ^{xvi} Georgescu D, Ferrari-Lacraz S, Villard J. Anticorps anti-HLA et rejet en transplantation rénale : impact des nouvelles techniques de détection.
- ^{xvii} Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *New England Journal of Medicine* 2000 Jul 27 ; 343(4) : 230-8

- ^{xviii} Vantghem MC, Kerr-Conte J, Arnalsteen L, Sergent G, Defrance F, Gmyr V, Declerck N, Raverdy V, Vandewalle B, Pigny P, Noel C, Pattou F. Primary graft function, metabolic control, and graft survival after islet transplantation. *Diabetes Care*. 2009 Aug ; 32(8):1473-8.
- ^{xix} Pattou F, Vantghem MC. Traitement du diabète de type 1 par l'allogreffe d'îlots de Langerhans. CHRU de Lille 2005
- ^{xx} Dorosz 2009, p1039 ; *Le Moniteur – Infectiologie* 3^{ème} édition, p.1023
- ^{xxi} Dorosz 2009, p1030-1031 ; *Le Moniteur – Infectiologie* 3^{ème} édition, p.1019-1020
- ^{xxii} Dorosz 2009, p1028-1029 ; Vidal 2012, p1833-1836 ; *Le Moniteur – Infectiologie* 3^{ème} édition, p.1019
- ^{xxiii} Dorosz 2009, p160-161 ; Vidal 2012, p2407 ; *Le Moniteur – Infectiologie* 3^{ème} édition, p.836
- ^{xxiv} Dorosz 2009, p132-133 ; Vidal 2012, p2277-2278 ; *Le Moniteur – Infectiologie* 3^{ème} édition, p.790
- ^{xxv} B. Audry, C Jacquelinet. Etude des conséquences immunologiques et impact sur l'accès à la greffe rénale de la greffe d'îlots pancréatiques. ABM 2011
- ^{xxvi} Laboratoire d'Immunologie, Mme Dufossé, CHR C.Huriez
- ^{xxvii} Agence de Biomédecine, Paris, Calculs de B.Audry
- ^{xxviii} Vantghem MC, Kerr-Conte J, Arnalsteen L, Sergent G, Defrance F, Gmyr V, Declerck N, Raverdy V, Vandewalle B, Pigny P, Noel C, Pattou F. Primary graft function, metabolic control, and graft survival after islet transplantation. *Diabetes Care*. 2009 Aug;32(8):1473-8.
- ^{xxix} Shapiro AM, Ricordi C, Hering BJ, Auchincloss H, Lindblad R, Robertson RP, Secchi A, Brendel MD, Berney T, Brennan DC, Cagliero E, Alejandro R, Ryan EA, DiMercurio B, Morel P, Polonsky KS, Reems JA, Bretzel RG, Bertuzzi F, Froud T, Kandaswamy R, Sutherland DE, Eisenbarth G, Segal M, Preiksaitis J, Korbutt GS, Barton FB, Viviano L, Seyfert-Margolis V, Bluestone J, Lakey JR. International trial of the Edmonton protocol for islet transplantation. *N Engl J Med*. 2006 Sep 28;355(13):1318-30.
- ^{xxx} Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *New England Journal of Medicine* 2000 Jul 27 343(4) : 230-8
- ^{xxxi} Naziruddin B, Wease S, Stablein D, Barton FB, Berney T, Rickels MR, Alejandro R, Investigators TC. HLA Class I Sensitization in Islet Transplant Recipients - Report from the Collaborative Islet Transplant Registry. *Cell Transplant* 2011 Nov 11



DECISION D'AUTORISATION DE SOUTENANCE

Nom et Prénom de l'étudiant : PARTHIOT Christophe

Date, heure et lieu de soutenance :

Le 10 | 05 | 2012 à 18 h. 00 Amphithéâtre ou salle : Curie
jour mois année

Avis du conseiller de thèse:

Nom : PATOU Prénom : François

favorable

défavorable

Motif de l'avis défavorable :
.....
.....

Date :
Signature:

28/3/2012

Décision de Monsieur le Doyen:

favorable

défavorable

Le Doyen

L. DUBREUIL

NB : La faculté n'entend donner aucune approbation ou improbation aux opinions émises dans les thèses, qui doivent être regardées comme propres à leurs auteurs.

Université de Lille 2
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2011/2012

Nom : PARTHIOT
Prénom : Christophe

Titre de la thèse : Allosensibilisation post-greffes des patients diabétiques de type 1 ayant bénéficié d'allogreffes d'îlots de Langerhans

Mots-clés : Diabète de type 1, greffes, îlots de Langerhans, greffes de rein, allosensibilisation, HLA, FAG

Résumé : Le diabète de type 1, également appelé insulino-dépendant en raison de l'apport exogène d'insuline indispensable au traitement de la maladie, touche près de 200 000 personnes en France. Malgré les différents schémas d'injection existants, certains patients échappent à ce traitement et ne parviennent plus à maintenir une glycémie satisfaisante. Une alternative encore au stade d'étude clinique existe et consiste à greffer des îlots de Langerhans. Cette thérapie cellulaire basée sur plusieurs allogreffes peut cependant sensibiliser ces patients, ces derniers nécessitant parfois une greffe de rein suite aux angiopathies diabétiques. Chez les quatorze patients de l'étude menée au CHR de Lille, les sérums ont été analysés avant et après les greffes afin de déterminer leur potentielle sensibilisation. Les résultats ont alors été étudiés par l'Agence de BioMédecine afin de documenter le risque d'immunisation et de prévoir les chances d'accès à une greffe de rein pour chaque patient. Il apparaît alors que le risque de diminution d'accès à la greffe rénale est modéré. Certes, en considérant les antigènes des donneurs comme interdits, le flux de donneurs potentiels diminue. Mais, les priorités accordées par le système français des greffes font que la majorité des patients étudiés pourrait accéder à une greffe. Cette dernière se ferait alors avec un temps d'attente probablement allongé, et un moins bon appariement HLA.

Membres du jury :

Président :

Professeur BROUSSEAU Thierry, Chef de service Pôle de Biologie Pathologie génétique, CHRU de Lille

Assesseur :

Mme ROGER Nadine, Immunologiste, CHRU de Lille

Membres extérieurs :

Professeur PATTOU François, Chef de service Chirurgie Générale et Endocrinienne, CHRU de Lille

Mme DUFOSSE Françoise, Immunologiste, CHRU de Lille

Mme RAVERDY Violeta, Attachée de recherche clinique, CHRU de Lille