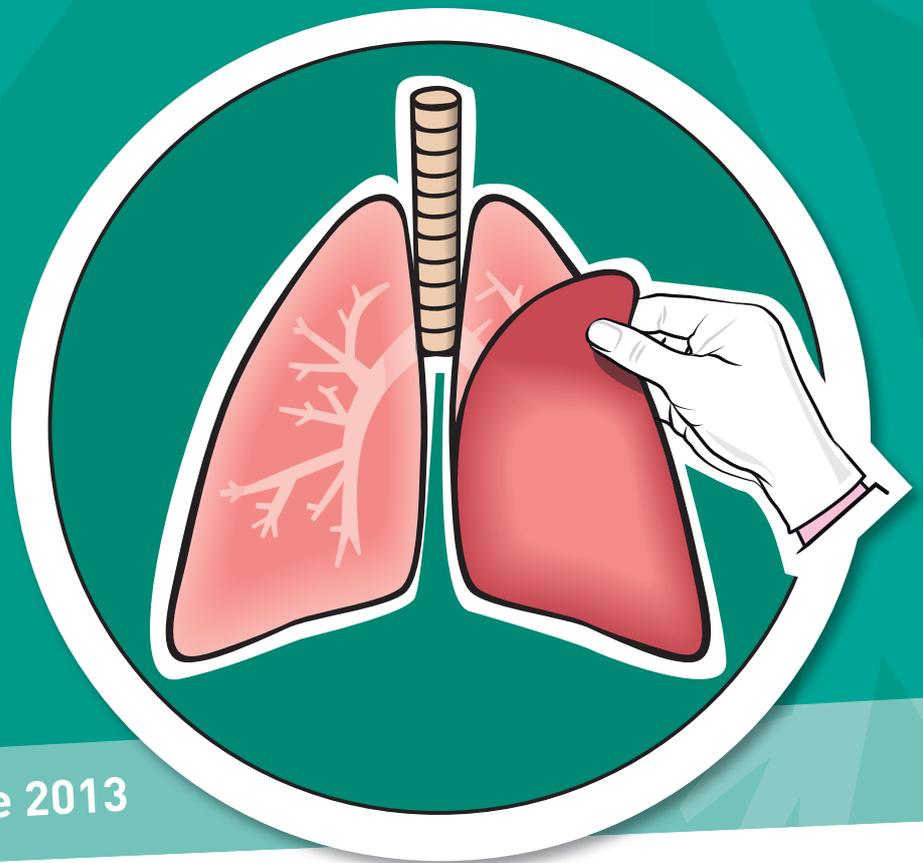


PROGRÈS EN TRANSPLANTATION PULMONAIRE

33 projets de recherche pour faire évoluer les pratiques



Conférence 14-15 novembre 2013



Jeudi 14 novembre 2013

17h00 - 19h00 Plénière d'ouverture

- ▶ Accueil et introduction par Patrick Tejedor et Jean Lafond, association Vaincre la Mucoviscidose. Mot de Pierre Lemarchal, Association Grégory Lemarchal.
- ▶ « La transplantation pulmonaire », Marc Stern, hôpital Foch, Suresnes.
- ▶ « Bénéfice de la transplantation pulmonaire sur la survie des patients atteints de mucoviscidose », Gabriel Thabut, hôpital Bichat, Paris.
- ▶ « COLT : une cohorte unique de transplantés pulmonaires », Antoine Magnan, Institut du Thorax, Nantes.
- ▶ « Étude pilote de la transplantation de greffons pulmonaires réhabilités en ex vivo », Édouard Sage, hôpital Foch, Suresnes.

19h00 - 21h00 Cocktail dînatoire

Vendredi 15 novembre 2013

08h00 - 09h00 Accueil

09h00 - 09h10 Introduction

09h10 - 09h30 « Greffe combinée de poumon et d'îlots pancréatiques dans la mucoviscidose ; étude Pilote PIM », Laurence Kessler, CHRU de Strasbourg.

09h30 - 09h50 « Inhibiteurs MSK1 pour combattre la bronchiolite oblitérante », Simona Nemska et Nelly Frossard, UMR 7200 CNRS - Université de Strasbourg.

09h50 - 10h10 « Polymorphisme génétique et évaluation clinique après transplantation pulmonaire » Catherine Forconi et Christophe Baron, EA 4245 - Université François-Rabelais de Tours.

10h10 - 10h30 « Transplantation pulmonaire : rôle de l'immunité spécifique de CMV dans le rejet aigu et chronique », Antoine Roux, hôpital Foch, Suresnes.

10h30 - 11h00 Pause

11h00 - 11h20 « Test multiplex "IMMUNOSUP" : analyse simultanée d'une série de biomarqueurs pour le suivi de l'immunosuppression », Sylvia Sanquer, UMR-S 747 - Université Paris-Descartes.

11h20 - 11h40 « Douleur aiguë et chronique en transplantation pulmonaire : prévalence, facteurs associés, prise en charge », Mireille Michel-Cherqui, hôpital Foch, Suresnes.

11h40 - 12h00 « Nouvelle technique de préservation pulmonaire in situ chez le donneur à cœur arrêté : évaluation de la qualité du greffon par la métabolomique RMN HRMAS », Malika Amel Benahmed et Izzie-Jacques Namer, CHRU de Strasbourg.

12h00 - 12h20 « Impact de l'immunisation humorale sur le pronostic vital et fonctionnel respiratoire chez les patients transplantés pulmonaires », Martine Reynaud-Gaubert, hôpital Nord, Marseille.

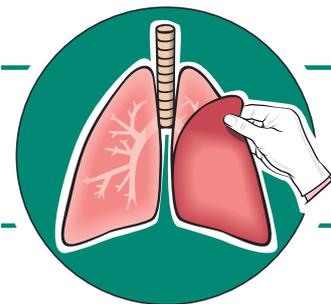
12h20 - 14h20 Déjeuner

14h20 - 14h40 « Recherche de marqueurs pour le diagnostic du rejet humoral en transplantation pulmonaire », Marc Stern, hôpital Foch, Suresnes.

14h40 - 15h00 « Étude du transcriptome des patients COLT atteints de mucoviscidose et d'HTAP primitive », Julie Chesne, Institut du Thorax, Nantes.

15h00 - 15h20 « Facteurs prédictifs de survie des patients mucoviscidosiques adressés pour bilan pré-greffe pulmonaire », Reem Kanaan, hôpital Cochin, Paris.

15h20 - 17h00 Table ronde « La transplantation pulmonaire, bilan et perspectives » et conclusion.



Conférence 14-15 novembre 2013

Les progrès en transplantation pulmonaire :

33 projets de recherche pour faire évoluer les pratiques



Malgré les avancées de la recherche, l'insuffisance respiratoire chronique terminale reste aujourd'hui la première cause de mortalité dans la mucoviscidose ; c'est pourquoi cette maladie est la première indication pour la transplantation pulmonaire en France. Cependant, la pénurie des greffons ainsi que les complications liées à la transplantation des poumons restent des sujets importants et c'est dans ce contexte qu'en 2008 Vaincre la Mucoviscidose a initié un programme exceptionnel de recherche, cofinancé avec l'Association Grégory Lemarchal, pour une amélioration significative des connaissances et des pratiques dans le domaine de la transplantation pulmonaire.

Au cours des cinq années de ce programme, 33 projets de recherche ont été développés dans le cadre de cinq thématiques :

- ▶ Facteurs liés à la survie après transplantation
 - Diminuer la mortalité sur liste d'attente
- ▶ Période per et péri-opératoire
 - Optimisation des opérations techniques lors d'une transplantation pulmonaire
- ▶ Rejet aigu et dysfonctionnement chronique du greffon
 - Prévention et traitement des complications post-greffe
- ▶ Évaluation de nouvelles stratégies d'immunosuppression
 - Prévenir les rejets
- ▶ Qualité de vie des patients transplantés
 - Améliorer la prise en charge post-greffe

« Aujourd'hui, le bénéfice de la greffe sur l'espérance et la qualité de la vie ne fait aucun doute. Il va encore augmenter. Aussi faut-il poursuivre avec vigueur toutes les actions qui tendent à promouvoir le don d'organe et à améliorer l'ensemble de la chaîne de la transplantation. »

Jean Lafond,

Président de Vaincre la Mucoviscidose de 2003 à 2013

L'ensemble des équipes françaises impliquées dans la transplantation pulmonaire se sont mobilisées autour de ce programme qui marque un tournant dans l'organisation de la recherche dans ce domaine.

Sommaire

Victor Appay/Antoine Roux

Transplantation pulmonaire : rôle de l'immunité spécifique de CMV dans le rejet aigu et chronique p.4

Christophe Baron/Catherine Forconi

Association entre le polymorphisme du gène programmed cell death-1 et la survie des greffons pulmonaires et rénaux p.5

Olivier Brugière

Modification des propriétés immunosuppressives des cellules épithéliales bronchiques chez les patients greffes pulmonaires : modèle « *ex vivo* » de réponse lymphocytaire T allogénique p.6

Olivier Brugière

Rôle de l'expression de la molécule HLA-G comme marqueur prédictif de stabilité fonctionnelle chez les patients greffes pulmonaires : étude prospective sur 3 ans p.7

Élise Chiffolleau

Rôle de CLEC-1, un récepteur « lectin like » de type C, dans la tolérance immunitaire à l'allogreffe p.8

Maria-Cristina Cuturi

Caractérisation d'une stratégie innovante et applicable en transplantation humaine : quel est le rôle de l'apprêtement de l'antigène et la protéine TMEM176B dans la thérapie cellulaire par TOL-DC autologues ? p.9

Valérie David

Identification des besoins en éducation thérapeutique du patient transplanté pour mucoviscidose p.10

Valérie David

Représentations des patients atteints de mucoviscidose, de leurs aidants et des médecins : freins ou motivations à la transplantation pulmonaire p.11

Nelly Frossard/Simona Nemska

Kinase MSK1 et bronchiolite oblitérante p.12

Maryvonne Hourmant

Intérêt prédictif du PIIINP et de la NGAL urinaires pour le développement d'une insuffisance rénale chronique chez les patients atteints de mucoviscidose après transplantation pulmonaire (étude muco-IRC) p.13

Reem Kanaan

Facteurs prédictifs de survie des patients mucoviscidosiques adressés pour bilan pré-greffe pulmonaire p.15

Laurence Kessler

Efficacité métabolique de la greffe combinée de poumon et d'îlots pancréatiques dans la mucoviscidose – étude pilote PIM p.16

Jérôme Le Goff

Analyse des interactions entre le profil de la réplication du virus EBV et la réponse cellulaire anti-EBV chez les patients transplantés pulmonaires EBV négatifs p.17

Sophie Legros-Roussel

Le fonctionnement psychosomatique des patients atteints de mucoviscidose confrontés à la transplantation pulmonaire. Les facteurs psychiques favorables à la survie p.18

Brigitte Le Mauff/Bernard Vanhove

Le transfert de gène du CD40IG ne prévient pas le rejet en allogreffe de rein chez le primate-non humain p.19

Antoine Magnan

Projet COLT - Cohort in lung transplantation p.20

Antoine Magnan/Julie Chesné

Étude du transcriptome sanguin chez des patients en insuffisance respiratoire chronique, signatures communes et spécifiques p.21

Pierre Marquet

Évaluation du rapport bénéfice/risque après transplantation pulmonaire : étude Belt. Follow-up de l'étude STIMMUGREP p.22

Pierre Marquet

L'essai clinique BASALT (bayesian dose adjustment of immunosuppressants after lung transplantation) p.23

Olaf Mercier

La cardioplégie améliore-t-elle la préservation bronchique après le prélèvement bi-pulmonaire ? p.25

Mireille Michel-Cherqui

Douleur aiguë et chronique en transplantation pulmonaire : prévalence, facteurs associés, prise en charge p.26

Sacha Mussot

Évaluation *ex vivo* après le reconditionnement d'un poumon gauche sur cœur arrêté prélevé sur un modèle porcin p.27

Jacques Izzie Namer/Malika Benahmed

La métabolomique par la spectroscopie RMN HRMAS dans le cadre de l'évaluation de la qualité du greffon pour la transplantation pulmonaire p.28

Raphaëlle Pauthe-Farcy

Vécu de la greffe-représentations psychiques du greffon et du donneur chez des personnes transplantées pulmonaires p.30

Florent Périn-Dureau

Évaluation prospective des complications neurologiques secondaires à l'acte chirurgical de la transplantation pulmonaire p.31

Julien Pottecher

Valeurs prédictives des marqueurs physiques et biochimiques de l'œdème de reperfusion après transplantation pulmonaire p.32

Martine Reynaud-Gaubert

Impact de l'immunisation humorale sur le pronostic vital et fonctionnel respiratoire après transplantation pulmonaire ; rôle des allèles et des haplotypes HLA-G du receveur p.33

Édouard Sage

Expérience française de transplantation pulmonaire après réhabilitation *ex vivo* de greffons initialement rejetés p.35

Sylvia Sanquer

Développement d'un suivi biologique de l'état d'immunosuppression après transplantation pulmonaire : exemple de l'activité calcineurine p.36

Rédha Souilamas/Raphael Briot

Évaluation *ex vivo* de greffons pulmonaires non acceptés pour la transplantation pulmonaire p.37

Marc Stern

Recherche de marqueurs pour le diagnostic du rejet humoral en transplantation pulmonaire p.38

Gabriel Thabut

Bénéfice de la transplantation pulmonaire sur la survie des patients atteints de mucoviscidose p.39

Gabriel Thabut

Modélisation de l'activité de transplantation pulmonaire par simulations informatiques p.40

Bernard Vanhove

La tolérance à la transplantation est associée à une expression réduite de la cystathionine- Γ -lyase qui contrôle la production d'interleukine-12 par les cellules dendritiques et les réponses immunes de type TH-1 p.41



Transplantation pulmonaire : rôle de l'immunité spécifique de CMV dans le rejet aigu et chronique

Auteurs

Roux A.^{a,b}, Mourin G.^a, Fastenackels S.^a, Almeida J. R.^c, Candela Iglesias M.^a, Boyd A.^d, Gostick E.^e, Larsen M.^a, Price D. A.^{c,e}, Sacre K.^a, Douek D. C.^c, Autran B.^{a,f}, Picard C.^b, De Miranda S.^b, Sauce D.^a, Stern M.^b, Appay V.^{a,f}

Affiliations

- INSERM UMR S 945, Immunité et infection, Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, Hôpital Pitié-Salpêtrière, 75013 Paris, France
- Service de Pneumologie, Hôpital Foch, 40 rue Worth, 92151 Suresnes, France
- Human Immunology Section, Vaccine Research Center, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892, USA
- INSERM UMR S 707, Epidémiologie, modélisation et système d'information, Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, Hôpital Saint-Antoine, 75012 Paris, France
- Institute of Infection and Immunity, Cardiff University School of Medicine, Heath Park, Cardiff CF14 4XN, Wales, UK
- AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Laboratoire d'Immunologie Cellulaire et Tissulaire, 75013 Paris, France

Contexte

La transplantation pulmonaire est le seul traitement curatif de certaines maladies respiratoires au stade d'insuffisance terminale. La survenue de rejet aigu est un déterminant majeur du pronostic des patients transplantés pulmonaires. Si un lien épidémiologique a été établi entre l'infection CMV et le rejet aigu, les raisons de cette association restent mal connues.

Objectif-Méthodes

Afin de préciser cette association, nous avons mis en place une étude longitudinale de la réponse lymphocytaire T spécifique du CMV et de l'activation lymphocytaire dans les compartiments sanguins et pulmonaires (LBA) chez des patients transplantés pulmonaires répartis en quatre groupes selon leur sérostatut CMV (D+R-, D+R+, D-R+ et D-R-).

Résultats

L'étude a inclus 44 patients. Parmi les patients D+R- et D-R-, dans les PBMC et le LBA, la survenue de rejet aigu était associée à une augmentation

de l'activation lymphocytaire T CD8+ (respectivement, $p=0,0280$ et $p=0,0143$). Chez les D+R-, l'expression de CD38 par les lymphocytes T CD8+ totaux était fortement corrélée à celle des lymphocytes T CD8+ spécifiques de CMV ($r=0,78$; $p<0,0001$) ainsi qu'à la fréquence de lymphocytes T CD8+ tétramère+ ($r=0,63$; $p<0,0001$). Les % de lymphocytes T CD8+ CD38+ et la fréquence de lymphocytes T CD8+ tétramère+ dans les compartiments sanguins et pulmonaires étaient également fortement corrélés chez les D+R- ($r=0,63$; $p=0,012$ and $r=0,73$; $p<0,0001$), mais pas chez les D-R- ($r=0,08$; $p=0,6$ and $r=0,1$; $p=0,7$). Enfin, le clonotypage a mis en évidence les mêmes clonotypes dominants dans les deux compartiments sanguin et pulmonaire, suggérant une migration de la périphérie vers le poumon infecté par CMV.

Conclusion

Ces résultats suggèrent que la réponse lymphocytaire T CD8+ spécifique de CMV joue un rôle dans l'association entre l'infection CMV et la survenue de rejet aigu.

Contacts : victor.appay@upmc.fr / dr.rouxantoine@gmail.com

Association entre le polymorphisme du gène programmed cell death-1 et la survie des greffons pulmonaires et rénaux

Auteurs

Forconi C.¹, Gatault Ph.^{1,2,3}, Halimi J.-M.^{1,2}, Hoffmann T. W.¹, Stern M.⁴, Guillemain R.⁵, Magnan A.⁶, Suberbielle C.⁷, Cesbron-Gautier A.⁸, Marlière J.-F.², Guibon R.¹, Lebranchu Y.^{1,2}, Büchler M.^{1,2}, Baron Ch.^{1,2}

Affiliations

1. EA4245 Dendritic Cells, Immunomodulation and Grafts, Tours University, 10, Boulevard Tonnelles, 37032 Tours France.
2. Department of Nephrology and Clinical Immunology, CHRU de Tours, Tours, 2, Boulevard Tonnelles, 37032 Tours France.
3. Laboratory of Immunology, CHRU de Tours, 2, Boulevard Tonnelles, 37032 Tours, France.
4. Pneumology and Lung Transplant Unit, FOCH hospital, 40, rue Worth 92151 Suresnes, France
5. Department of Thoracic Surgery and Lung Transplant, HEGP hospital, 20, rue Leblanc 75908 Paris, France.
6. INSERM UMR 915, Institut du Thorax, IRT-UN, Boulevard Jacques Monod 44093 Nantes, France.
7. Laboratory of Immunology and Histocompatibility, Saint-Louis hospital, APHP, 1, avenue Claude Vellefaux 75010 Paris, France.
8. Laboratory of Histocompatibility, National Blood Bank, 34, Boulevard Jean Monnet 44000 Nantes, France.

Contexte

Contexte: L'infection à cytomégalo virus (CMV) a été associée à une dysfonction chronique des greffons pulmonaires et rénaux. Cependant, aucun facteur de risque génétique n'a encore été identifié. Le rôle de la protéine Programmed cell Death-1 (PD-1) est crucial dans le processus d'épuisement des lymphocytes T CMV-spécifiques. Un polymorphisme nucléotidique simple (SNP), rs11568821 (substitution de G en A; PD1.3), dans le gène *PDCD1* a été associé à une diminution de la fonction de la protéine PD-1. Nous avons étudié si ce SNP est associé à un risque de perte du greffon dans les reins et la transplantation pulmonaire.

Objectif-Méthodes

Le SNP a été caractérisé par la technique OLA au sein d'une cohorte de 1120 patients greffés rénaux, transplantés entre 1985 et 2008 à Tours, et dans une cohorte de validation de 193 patients transplantés pulmonaires regroupant les patients des hôpitaux de l'HEGP, de Foch et de Nantes. La survie du greffon a été évaluée par la méthode de Kaplan-Meier selon le génotype du SNP. Par la suite, l'association entre le SNP et la survie du greffon a été évaluée dans deux groupes de patients: d'une part ceux qui ont reçu un organe provenant d'un donneur CMV-séropositif (D+) et d'autre part le groupe de patients pour lesquels les donateurs et les receveurs sont CMV-séronégatif (D-/R-).

Résultats

La fréquence de l'allèle mineure similaire au sein des cohortes de patients transplantés pulmonaires et de patients transplantés rénaux était proche de celle rapportée au sein d'une cohorte d'individus Caucasiens sains. L'analyse multivariée des patients D+ a révélé que les porteurs de l'allèle étaient fortement protégés contre l'insuffisance rénale du greffon (ratio de risque : 0,381 ; 95 % CI 0,209-0,696 ; p=0,0017) et contre la perte du poumon chez les patients transplantés pulmonaires (HR : 0,305 ; IC 95 % 0,128-0,716 ; p=0,006) ; à contrario, chez les patients D-R- aucune association n'est observée (p=0,522 et p=0,709 pour la transplantation rénale et pulmonaire respectivement).

Conclusion

Ces résultats indiquent que le polymorphisme du gène de PD-1 était significativement associé à la survie du greffon dans les deux cohortes pulmonaires et rénales pour les patients recevant un greffon provenant d'un donneur CMV-séropositif. De manière intéressante, cette association suggère que le polymorphisme de PD-1 aurait une incidence sur la capacité du receveur à contrôler la réplication virale au sein du greffon, en particulier dans le poumon qui est un site majeur de latence virale. Une étude *in vitro* est en cours afin d'évaluer la réponse immunitaire anti-CMV en fonction du polymorphisme de *PDCD1*. Cette étude est la première à identifier un facteur de survie du greffon de risque génétique dans deux types de transplantations d'organes. Ces résultats pourraient conduire à de futures études cliniques prospectives.



Modification des propriétés immunosuppressives des cellules épithéliales bronchiques chez les patients greffés pulmonaires : modèle «*ex vivo*» de réponse lymphocytaire T allogénique.

Auteurs

Lhuillier E.^{1,2,3}, Brugière O.^{1,2,3},
Letuve S.², Montespan FL.³,
Pretolani M.², Rouas-Freiss N.³

Affiliations

1. Service de Pneumologie B et de Transplantation Pulmonaire, Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Bichat-Claude Bernard, Paris, France;
2. Université Paris 7, Faculté de Médecine Denis Diderot, Paris, France;
3. CEA-I2BM-Service de Recherches en Hemato-Immunologie, Paris, France.

Introduction

La bronchiolite oblitérante (BO) post greffe pulmonaire reste la 1^{ère} cause de mortalité post-greffe. La réponse cellulaire adaptative des lymphocytes T semble jouer un rôle central au cours de la BO, mais ses mécanismes effecteurs précis restent mal cernés.

But et objectifs de l'étude

Évaluer le dialogue cellulaire entre cellule épithéliale bronchique (CEB) et

lymphocyte T (Ly T) chez les patients greffés pulmonaires en état stable et porteurs de BO. Dans ce but, il a été développé un modèle «*ex vivo*» de réponse allogénique T dirigée contre les CEB en cultures primaires, issues de patients greffés. La réponse allogénique T (mesurée par la prolifération lymphocytaire T) dirigée contre des CEB isolées, ou des CEB associées à des cellules présentatrices de l'antigène professionnelle (APC), a été évaluée.

Méthodes

17 greffés pulmonaires [en état stable (n=9) ou porteurs de BO (n=8)] ont été inclus. Pour chacun des patients, une réaction «mixte» a été effectuée entre cellules mononuclées périphériques (PMN) et CEB issus du même patient, en présence ou non d'APC professionnelles. Des CEB et cellules PMN d'individus sains ont été utilisées comme contrôles.

Résultats

Une inhibition marquée de l'alloprolifération T au cours de la réaction mixte avec CEB + APC professionnelle

a été observée dans tous les groupes (contrôles, greffés stables, greffés avec BO), mais cette inhibition était significativement moindre chez les greffés pulmonaires comparés aux contrôles, en particulier ceux porteurs de BO. L'expression des molécules de co-stimulation (CD40, CD80, CD83, CD86, HLA-DR) et de la molécule tolérogène HLA-G par les CEB était similaire chez tous les groupes de patients (contrôles, greffés stables, greffés porteurs de BO), à l'exception de CD83 and HLA-G, qui n'étaient détectés que chez les greffés pulmonaires.

Conclusion

Dans un modèle «*ex vivo*» de réponse allogénique T dirigée contre les CEB, la prolifération lymphocytaire T semble moins intensément inhibée chez les greffés pulmonaires comparés aux contrôles, surtout chez ceux porteurs de BO. Ce mécanisme pourrait être crucial dans le déclenchement de la réponse immune T-dépendante chez les greffés pulmonaires.

Contact : olivier.brugiere@bch.aphp.fr

Rôle de l'expression de la molécule HLA-G comme marqueur prédictif de stabilité fonctionnelle chez les patients greffés pulmonaires : étude prospective sur 3 ans

Auteurs

Brugière O., Thabut G., Krawice-Radanne I., Carosella E., Mal H., Rouas-Freiss N.

Affiliations

Laboratoire d'Hémo-Immunologie,
Hôpital Saint-Louis,
Service de Transplantation pulmonaire,
Hôpital Bichat.

Contexte

Chez les greffés pulmonaires, l'expression de la molécule HLA-G au sein du greffon pulmonaire a été associée à un état clinique stable à la date du prélèvement pulmonaire (biopsies transbronchiques). Afin d'évaluer le possible rôle de la molécule HLA-G comme marqueur prédictif de tolérance du greffon à moyen terme, une étude prospective sur 3 ans a été effectuée au sein d'une cohorte de patients greffés. L'association de l'expression précoce d'HLA-G et d'une stabilité fonctionnelle à court et moyen-terme a été analysée. La stabilité fonctionnelle

a été évaluée sur une incidence moindre de rejets aigus (RA) et de syndrome de bronchiolite oblitérante (SBO).

Matériels et méthodes

64 greffés pulmonaires ont été suivis pendant 3 ans. À 3 mois et 12 mois post-greffe, des biopsies transbronchiques, un lavage bronchoalvéolaire (LBA), et du sang périphérique ont été prélevés chez ces patients en état stable. L'expression de HLA-G a été analysée par immunohistochimie au sein des greffons pulmonaires et un dosage de la forme soluble (sHLA-G) dans le sang périphérique et le LBA réalisée par méthode ELISA, chez des patients en état stable. La survie indemne de SBO et un score de RA (SRA) ont été comparés entre patients avec et ceux sans expression d'HLA-G (soit au sein du greffon, soit dans le sang périphérique).

Résultats

La survie indemne de SBO était supérieure chez les patients exprimant HLA-G au sein du greffon, comparés à

ceux sans détection de cette expression ($p < 0.003$), mais n'était pas différente selon le dosage sanguin d'HLA-G dans le sang ou le LBA, à 3 et/ou 12 mois post-Tx ($p = ns$). Il n'a pas été observé de corrélation entre l'expression d'HLA-G au sein du greffon, dans le sang, et dans le LBA. De plus, il a été observé une moindre détection d'AC anti-HLA dépistés par méthode Luminex (Single-antigène) chez les patients exprimant HLA-G au sein du greffon.

Conclusion

L'expression précoce et répétée d'HLA-G au sein du greffon chez un greffé pulmonaire stable semble prédictif d'une stabilité fonctionnelle à court et moyen terme. A l'inverse, le dosage d'HLA-G dans le sang ou le LBA ne semble pas prédictif de l'évolution fonctionnelle.

Contact : olivier.brugiere@bch.aphp.fr



Rôle de CLEC-1, un récepteur « lectin like » de type C, dans la tolérance immunitaire à l'allogreffe

Auteurs

Thebault P., Lhermite N., Tilly G.,
Le Texier L., Quillard T., Heslan M.,
Anegon I., Soullou J.-P.,
Brouard S., Charreau B.,
Cuturi M. C., **Chiffolleau E.**

Affiliations

INSERM, Unité 1064, Institut de
Transplantation et de Recherche en
Transplantation, Centre Hospitalier
Universitaire de Nantes, Nantes,
France.

Contexte

La transplantation pulmonaire est actuellement la solution de choix pour traiter les patients atteints de fibrose kystique. Le développement de nouvelles thérapies pour prévenir le rejet de greffe représente donc un thème de recherche important qui nécessite de la recherche fondamentale dans les modèles expérimentaux animaux. Dans cet objectif, nous avons développé un modèle de tolérance à l'allogreffe cardiaque chez le rat induit par un traitement court avec un immunosuppresseur, le LF15-0195, un analogue de la deoxyspergualine. Nous avons identifié CLEC-1, un récepteur « lectin like » de type C de fonction inconnue, sur-exprimé dans les allogreffes tolérées comparées à des allogreffes développant du rejet chronique.

Objectif

L'objectif de notre projet était d'analyser la régulation de l'expression de cette nouvelle molécule CLEC-1, et sa fonction dans les processus de tolérance à l'allogreffe chez le rongeur et chez l'Homme.

Résultats

Nous avons démontré et publié en 2009 que CLEC-1 est exprimé par les cellules endothéliales et myéloïdes et notamment très fortement par les macrophages alvéolaires et dans le poumon. D'autre part, nous avons montré que l'expression de CLEC-1 dans ces cellules diminue suite à l'activation par des stimuli pro-inflammatoires alors qu'elle augmente suite à des stimuli tolérogènes tels que l'IL-10 et le TGF β ou au contact des cellules T régulatrices CD4+CD25+ (Thebault et al, JI, 2009). Nous avons également démontré par la technique des siRNA que CLEC-1 dans les cellules dendritiques inhibe l'activation T et la production d'IL-17 (phénotype Th17) et favorise la production d'IL-13 (phénotype Th2). Ces résultats suggèrent que CLEC-1 pourrait être exprimé spécifiquement par les cellules tolérogènes et jouer un rôle dans la tolérance à l'allogreffe. Nous avons confirmé que CLEC-1 est bien exprimé à la surface des cellules endothéliales et dendritiques humaines et que son expression est fortement augmentée par l'IL-10. Les stimuli pro-inflammatoires ou le sérum de patients

greffés contenant des allo-anticorps et étant en rejet chronique diminuent l'expression de CLEC-1 dans les cellules humaines. D'autre part, une diminution de l'expression de CLEC-1 par les cellules endothéliales des vaisseaux a été observée dans des greffes en rejet chronique. Nous avons généré une protéine de fusion contenant le domaine extra-cellulaire de CLEC-1 et le fragment Fc murin d'une immunoglobuline. Avec cette protéine de fusion nous avons échoué dans notre tentative de déterminer le ligand de CLEC-1. Cependant, nous avons observé que bloquer l'interaction de CLEC-1 et de son ligand *in vitro* augmente la prolifération des LT (qui certainement expriment le ligand). D'autre part, nous avons généré des rats CLEC-1 KO avec la nouvelle technique des Zinc Finger Nucléases. Ces rats vont nous permettre d'étudier finement le rôle de CLEC-1 dans la fonction des cellules présentatrices d'antigène, dans la tolérance immunitaire et dans les pathologies pulmonaires.

Perspectives dans le contexte de la fibrose kystique

Au long terme, la molécule CLEC-1 étant exprimée à la surface des cellules pourrait représenter une cible thérapeutique pour moduler une réponse immunitaire et permettre d'induire la tolérance à une greffe de poumon ou comme un marqueur du devenir de la greffe.

Contact : elise.chiffolleau@univ-nantes.fr

Caractérisation d'une stratégie innovante et applicable en transplantation humaine : quel est le rôle de l'apprêtement de l'antigène et la protéine TMEM176B dans la thérapie cellulaire par TOL-DC autologues ?

Auteurs

Cuturi M. C.

Affiliation

INSERM U643

Objectif

Le but de notre projet est de caractériser une nouvelle stratégie de thérapie cellulaire visant à empêcher le rejet des organes transplantés. Une greffe est perçue par l'organisme comme une agression, au même titre que des microbes. Des mécanismes de défense sont donc engagés afin de détruire le greffon. Actuellement, les greffons peuvent être protégés de cette agression chez le receveur à l'aide des drogues qui inhibent les défenses naturelles de l'organisme. De ce fait, ces médicaments sont très toxiques, car ils

inhibent aussi des défenses vis-à-vis des vraies menaces telles que les infections ou encore les cancers. De plus, nettement dans la greffe de poumon, ces drogues sont peu efficaces. Ainsi, il est urgent de trouver des stratégies innovantes capables de faire accepter les greffons sans induire une toxicité importante. Nous avons identifié une méthode qui consiste à injecter chez le receveur des cellules qui ont une capacité très forte à inhiber le rejet de greffe. Il est important de comprendre comment ces cellules fonctionnent à fin d'améliorer son potentiel. Nous avons des pistes très intéressantes et originales concernant les mécanismes d'action de ces cellules. Nous voulons approfondir et améliorer ces observations dans le but de valider une nouvelle stratégie qui pourrait empêcher la perte de greffons chez le receveur. De plus, nous voulons étudier si une nouvelle protéine pourrait être utilisée en tant

que marqueur de rejet chronique chez les malades greffés.

Intérêt pour la mucoviscidose

La greffe de poumon est appropriée pour des maladies où la fonction de cet organe est gravement compromise. Le rejet du poumon, aussi bien dans des étapes précoces que tardives est un obstacle majeur à la réussite de cette stratégie. Ainsi, si nous sommes capables de faire accepter les greffons sans induire des effets non désirables, un grand nombre de malades atteints par la mucoviscidose pourraient en bénéficier et augmenter leur durée et qualité de vie. Quant à l'identification d'un nouveau marqueur de rejet chronique chez les malades greffés, ceci aurait un impact direct sur l'adaptation cas par cas des traitements visant à prolonger la survie du greffon.

Contact : ccuturi@nantes.inserm.fr



Identification des besoins en éducation thérapeutique du patient transplanté pour mucoviscidose

Auteurs

David V.¹, Danner I.¹, Feldman D.¹, B. Guyomarch¹, Le Rhun A.², Ravilly S.³, Lombrail P.⁴, Marchand C.⁵

Affiliations

1. Centre de référence pour la mucoviscidose, CHU Nantes, France
2. Unité d'éducation thérapeutique, CHU Nantes, France
3. Vaincre La Mucoviscidose, Paris, France
4. Pôle santé publique université Paris 13, Bobigny, France
5. Université Paris 13 Sorbonne Paris Cité, laboratoire de pédagogie de la santé, EA-3412, Bobigny, France

Contexte

Après la transplantation, les patients atteints de mucoviscidose ont un grand nombre de nouvelles compétences à acquérir : nouveaux médicaments, risques de nouvelles situations d'urgence, rejets et infections.

Objectifs

Clarifier les besoins en éducation thérapeutique de ces patients. Depuis 2009, 39 patients adultes, suivis dans 6 centres de transplantation français, ont été inclus et ont réalisé un entretien intitulé « diagnostic éducatif ».

Méthodes

Le diagnostic éducatif comprend 4 chapitres :

- ▶ un entretien général initial qui explore plusieurs dimensions : biomédicale, socio-professionnelle et cognitive
- ▶ une évaluation de la qualité de vie par une échelle visuelle analogique
- ▶ plusieurs questions sur le rôle des médicaments et une auto-évaluation de l'observance de ces médicaments
- ▶ un questionnaire de connaissances vrai-faux avec degrés de certitude.

Résultats

Cet entretien exhaustif montre que la plupart des patients aimeraient rencontrer plus souvent les assistantes sociales pour les aider dans la

reprise et l'aménagement du travail. Les besoins en accompagnement psychologique sont aussi souvent identifiés. La plupart des patients ont une excellente observance de leur traitement immuno-suppresseur mais prennent moins régulièrement les autres traitements, par exemple les extraits pancréatiques, les vitamines, les aérosols. Ils ont oublié le rôle de ces médicaments. Des difficultés ont aussi été remarquées devant certaines situations telles que "que dois-je faire si j'ai oublié de prendre mon immuno-suppresseur" ou "si je vomis". Les patients diabétiques expriment des besoins spécifiques.

Discussion/perspectives/conclusion

Pour répondre aux besoins identifiés lors de ces entretiens, nous avons développés des outils pédagogiques et pensons qu'il est nécessaire de construire un programme d'éducation thérapeutique depuis la préparation à la transplantation jusqu'au suivi post-transplantation, initial et à long terme

Contact : valerie.david@chu-nantes.fr

Représentations des patients atteints de mucoviscidose, de leurs aidants et des médecins : freins ou motivations à la transplantation pulmonaire

Auteurs

Marchand C.¹, Salhi L.¹,
Le Rhun A.², Ravilly S.³, Danner-
Boucher I.⁴, Gagnayre R.¹ et
David V.⁴

Affiliations

1. Université Paris 13 Sorbonne Paris Cité, laboratoire de pédagogie de la santé, EA-3412, Bobigny, France
2. Unité d'éducation thérapeutique, CHU Nantes, France
3. Vaincre La Mucoviscidose, Paris, France
4. Centre de référence pour la mucoviscidose, CHU Nantes, France

Contexte et objectifs

Les objectifs de cette étude sont de décrire les représentations de trois

acteurs impliqués dans la décision de transplantation pulmonaire dans la mucoviscidose, et d'identifier celles qui représentent pour eux des motivations ou des freins à la transplantation.

Méthode

Des entretiens avec élaboration d'une carte conceptuelle ont été réalisés auprès de 30 patients, 26 aidants et 27 médecins. Le degré d'acceptation de la greffe au moment des interviews a été mesuré.

Résultats

Les motivations et les freins concernent la période pré, péri et post transplantation. L'analyse révèle des similitudes concernant les risques et les bénéfices

de la transplantation, mais aussi des différences témoignant de préoccupations spécifiques à chaque type d'acteurs. Les patients et les aidants expriment de nombreuses peurs dans leur carte et les médecins des difficultés.

Discussion/perspectives/conclusion

L'étude montre l'intérêt de mieux connaître les représentations des différents acteurs afin de diminuer certains freins à la transplantation. Elle suggère de mettre en place des actions éducatives et de soutien auprès des patients et des aidants en amont de la transplantation, ainsi que des actions de formation continue et de supervision auprès des médecins.

Contact : valerie.david@chu-nantes.fr



Kinase MSK1 et bronchiolite oblitérante

Auteurs

Nemska S., Daubeuf F.,
Obrecht A., Marsol C., Villa P.,
Bourguignon J.-J., Frossard N.

Affiliation

Laboratoire d'Innovation Thérapeutique
UMR7200 CNRS – Université de
Strasbourg

Contexte

La bronchiolite oblitérante (BO) est la principale cause de décès à long terme après transplantation pulmonaire. Les traitements classiques immunosuppresseurs du rejet montrent un effet très limité dans la BO ; de nouvelles thérapies sont requises.

La BO se manifeste par une diminution des capacités respiratoires liée à l'obstruction des petites voies aériennes par un tissu inflammatoire et fibroprolifératif. Des cytokines pro-inflammatoires comme IL-6 sont impliqués dans le recrutement de cellules inflammatoires qui précède la prolifération des fibroblastes. MSK1 est une kinase nucléaire qui, dans des conditions inflammatoires, phosphoryle NF- κ B sur la Ser276 ce qui active la transcription de gènes pro-inflammatoires (Reber et al., 2009, *PLoS ONE* 4(2) :e4393).

Objectif

Dans cette étude nous avons étudié l'hypothèse de l'implication de la kinase MSK1 dans la BO et nous avons réalisé un criblage en milieu académique pour

la recherche de nouveaux inhibiteurs de cette kinase, pouvant être développés comme candidats-médicaments.

Méthodes

Nous avons utilisé la transplantation hétérotopique de trachée comme modèle murin de BO. La pertinence du choix de ce modèle a été confirmée par l'étude de la re-vascularisation fonctionnelle de la greffe après transplantation. Le taux d'expression de l'ARNm de MSK1 et d'IL-6 a été mesuré dans les greffes par RT-qPCR. Des inhibiteurs pharmacologiques de MSK1 (H89, fasudil, composé dérivé de 1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1,2,5-oxadiazol-3-ylamine) ont été utilisés par administration intrapéritonéale et les greffes ont été prélevées à J7 et J21 après la transplantation pour analyse i) du recrutement de cellules dendritiques et de lymphocytes par immunohistochimie avec des anticorps anti-CMH2 et anti-CD3, et ii) de la dégradation épithéliale et de l'obstruction fibroproliférative par coloration hématoxyline et éosine. Nous avons réalisé un criblage en utilisant les technologies HTRF (« Homogenous Time Resolved Fluorescence », Cisbio) et « Kinase – Glo luminescence Assay » (Promega) pour la recherche de nouvelles molécules inhibant MSK1. Des chimiothèques du laboratoire avec des molécules de structures diverses et originales ont été testées (6880 molécules). Les touches issues du criblage ont été analysées dans un modèle cellulaire de fibroblastes pulmonaires humains par activation de MSK1 après

stimulation par l'IL-1 β et mesure de l'expression d'IL-6 par ELISA.

Résultats

Dans notre modèle murin de BO, nous mettons en évidence une augmentation de l'expression de MSK1 de $6,4 \pm 1,8$ fois associée à une augmentation de l'expression de l'IL-6 de $39,8 \pm 19,3$ à J21, démontrant une augmentation de l'activité de MSK1. Le traitement des souris iso- et allo-transplantées par des inhibiteurs pharmacologiques de MSK1 permet d'inhiber les phases inflammatoire (J7) et fibroproliférative (J21) chez les allogreffes, démontrant le rôle de MSK1 dans la BO. En exemple, H89 inhibe la dégradation épithéliale de $44,9 \pm 11,7\%$, le recrutement de cellules dendritiques et de lymphocytes de $63,9 \pm 6,7\%$ et $92,1 \pm 4,1\%$, respectivement, et la fibroprolifération de $43,1 \pm 7,1\%$. Suite au criblage, 4 molécules ont été mises en évidence, inhibant MSK1 entre 10 et 70 % à $10 \mu\text{M}$. Une de ces molécules inhibe l'expression et la production d'IL-6 de $39,5 \pm 9,6\%$ à $10 \mu\text{M}$ dans des fibroblastes pulmonaires humains stimulés avec IL-1 β .

Conclusion et perspectives

Les résultats décrits montrent que la kinase MSK1 est une cible thérapeutique potentielle pour combattre la BO. L'analyse des molécules issues du criblage continue et des tests dans notre modèle de bronchiolite oblitérante *in vivo* sont prévus.

Contacts : nelly.frossard@unistra.fr / s.nemska@unistra.fr

Intérêt prédictif du PIIINP et de la NGAL urinaires pour le développement d'une insuffisance rénale chronique chez les patients atteints de mucoviscidose après transplantation pulmonaire (étude muco-IRC)

Auteurs

Hourmant M.¹, Garandeau C.¹, Haloun A.¹, Moreau A.¹, Reynaud-Gaubert M.², Dussol B.², Daniel L.², Lequentrec M.³, Stern M.³, Duong J. P.^{3,4}, Amrein C.⁴, Thervet E.⁴

Affiliations

1. Service de Néphrologie, Unité de Transplantation thoracique, Laboratoire d'Anatomopathologie. CHU de Nantes
2. Service de Pneumologie, Service de Néphrologie, Laboratoire d'Anatomopathologie. CHU de Marseille
3. Service de Néphrologie, Service de Pneumologie, Laboratoire d'Anatomopathologie. Hôpital Foch. Suresnes
4. Service d'Anesthésie, Service de Néphrologie, Laboratoire d'Anatomopathologie. Hôpital Européen G Pompidou. Paris

Contexte

La transplantation pulmonaire (TP) est le traitement de l'insuffisance respiratoire grave des patients atteints de mucoviscidose (MV). Si elle a amélioré la survie des patients, elle a malheureusement aussi apporté des pathologies nouvelles, comme l'insuffisance rénale chronique (IRC). Une analyse du registre des transplantations réalisées aux États-Unis (SRTR), publiée en 2003, rapportait une incidence cumulative d'IRC stade 4 ou plus (clearance de la créatinine <30 ml/mn) de 15,8 +/- 0,5% à 5 ans mais dans une autre publication, 31,1% des patients seulement ont une clearance >60 ml/mn à un an post-greffe. L'IRC est aussi un facteur de mortalité. Les patients atteints de mucoviscidose vont cumuler les lésions rénales liées à la TP et à la MV. Ces lésions restent mal connues, faute de biopsie rénale dans le bilan de l'IRC

ou lors d'épisodes d'insuffisance rénale aiguë (IRA). Une étude, la seule pratiquée dans ce contexte chez 15 patients, suggère qu'elles pouvaient être variées et inattendues. Le substratum de l'IRC est la fibrose interstitielle. La biopsie rénale ne pouvant que difficilement être répétée chez un même patient, il est intéressant de pouvoir utiliser un biomarqueur sanguin ou urinaire pour l'évaluer et suivre son évolution. Le but de notre projet est de vérifier l'intérêt de 2 biomarqueurs urinaires dans la prédiction de la dégradation de la fonction rénale chez des patients MV après TP :

- le PIIINP, produit de dégradation du collagène. Une étude réalisée à partir de 199 biopsies rénales a montré qu'il corrélait avec l'intensité de la fibrose rénale et pouvait être utilisé comme un fibrotest rénal
- la NGAL (Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin), sécrétée par les cellules tubulaires, qui est prédictive de l'IRA mais aussi de la progression de l'IRC.

Il s'agit d'une **étude multicentrique** avec 4 centres participants.

Objectif

L'objectif du projet Muco-IRC est 1/ de vérifier si les taux urinaires du PIIINP et de la NGAL ont un intérêt prédictif dans la dégradation de la fonction rénale de patients atteints de mucoviscidose et transplantés pulmonaires 2/ de décrire les lésions histologiques présentes chez les patients répondant aux critères conduisant habituellement à une biopsie en néphrologie

Méthodes

Critères de sélection : Les patients sélectionnés devront avoir plus de

18 ans, être transplantés depuis au moins 6 mois, avoir un débit de filtration glomérulaire (DFG) supérieur à 30 ml/mn et ayant donné un consentement à leur inclusion. Les patients ayant un DFG < 60 ml/mn et/ou une protéinurie >= 1 gr/j se verront proposer une biopsie rénale.

Les objectifs : L'objectif principal de l'étude est d'établir une corrélation entre le taux urinaire de PIIINP à l'inclusion et la variation du DFG mesurée par une technique isotopique (Chrome EDTA) sur les 2 ans de participation du patient à l'étude. Les objectifs secondaires sont : décrire les lésions histologiques, établir une corrélation entre le taux urinaire de PIIINP puis de NGAL avec l'intensité de la fibrose d'une part et le niveau de fonction rénale à l'inclusion d'autre part.

L'organisation de l'étude : Les patients sont recrutés au cours d'une consultation de suivi de routine de leur TP. La mesure isotopique du DFG est pratiquée dans chaque centre, à l'inclusion et à la fin de la période d'étude. La biopsie rénale est assurée par le service de néphrologie investigateur. Sur cette biopsie, la fibrose est évaluée selon les critères habituels de la classification de Banff mais elle sera aussi quantifiée selon une technique colorimétrique avec analyse d'images. Cet examen sera centralisé au Laboratoire d'images quantitatives de l'Institut Pasteur à Paris, sous la responsabilité du Professeur E. Thervet. Le PIIINP et la NGAL seront mesurés respectivement par radio-immunologie et ELISA, à l'UMR 643 du CHU de Nantes, sous la responsabilité du Professeur F. Fakhouri.

L'analyse statistique a déterminé que l'effectif devait être de 90 patients pour un risque de première espèce égal à 0,05 et une puissance de 0,9. La période



de recrutement est de 3 ans ; chaque patient est suivi 2 ans. La durée totale de l'étude est de 5 ans

Résultats

Pour des raisons administratives (autorisation AFSSAPS le 19/01/12, avis favorable du CPP Ouest V le 08/03/12, amendement au protocole en juillet 2012, retard à la signature des conventions inter hospitalières, surcoûts non affichés mais réclamés lors de l'installation du protocole), les visites d'installation ont eu lieu en mai 2012 et la première inclusion a eu lieu le 20 septembre 2012.

Nombre de patients inclus : 28 patients ont été inclus à la date du 03/10/2013, 7 à Nantes, 2 à l'Hôpital Foch, 5 à l'HEGP et 14 à Marseille.

L'âge moyen à l'inclusion est de 33,5 ans (21 à 50 ans). 7 patients ont un DFG isotopique \geq 30ml/min. La moyenne des DFG en MDRD est de 46.7 ml/min (24 à 77 ml/min) versus 37,2 ml/min (24 à 54 ml/min) en mesure isotopique. 8 patients sont diabétiques et 7 patients hypertendus.

Données histologiques : 4 patients ont eu pour le moment une biopsie rénale. La fibrose interstitielle est évaluée à 25%. 50 à 75% des glomérules sont scléreux. Tous les patients présentent une hyalinose artériolaire très sévère. On observe une tubulopathie pour 2 patients. Ces lésions sont secondaires au diabète mais aussi à la toxicité des inhibiteurs de la calcineurine. Un patient présente des lésions pigmentées tubulaires probablement secondaire à la prise d'antibiotique. La mesure quantitative de la fibrose par colorimétrie n'a pas encore été réalisée.

Le PIIINP et la NGAL urinaires n'ont pas encore été dosés car il est prévu de regrouper les échantillons. Le dosage aura lieu en octobre 2013.

Discussion/perspectives/conclusion

Ces résultats préliminaires, autant que l'on puisse en juger sur les quelques malades inclus, laissent supposer que l'étude sera informative, en raison de la

discordance déjà constatée entre 1/ la mesure isotopique du DFG et son estimation de routine par la formule MDRD 2/ l'intensité de la fibrose et le niveau de fonction rénale. Cette constatation rend plus évidente la nécessité de disposer d'un marqueur plus fiable des lésions rénales que la seule mesure de la fonction rénale. Ce marqueur peut être le PIIINP urinaire qui a été corrélé à la fibrose rénale et dont le dosage, non invasif, peut être utilisé de façon simple dans un suivi de routine. Un marqueur n'a d'intérêt que si son dosage peut conduire à des actions thérapeutiques. Ceci nécessite de connaître les lésions potentiellement responsables. Les premières biopsies réalisées montrent effectivement qu'elles dépassent la néphrotoxicité des anticalcineurines.

.....
Contact : maryvonne.hourmant@chu-nantes.fr
.....

Facteurs prédictifs de survie des patients mucoviscidosiques adressés pour bilan pré-greffe pulmonaire

Auteurs

Kanaan R.¹, Grenet D.², Sermet I.³

Affiliations

1. CRCM adulte, Hôpital Cochin,
2. CRCM adulte, Hôpital Foch,
3. CRCM pédiatrique, Hôpital Necker

Dans la mucoviscidose, la transplantation pulmonaire est le traitement d'ultime recours de l'insuffisance respiratoire terminale, après que toutes les autres mesures thérapeutiques aient été utilisées et dépassées.

Les recommandations internationales suggèrent que la transplantation doit être envisagée lorsque le patient est à haut risque de décès dans les 2 ans. En France, même si le délai médian d'attente sur liste a diminué à moins de 6 mois depuis 2005, des patients décèdent toujours sur liste ou sont retirés de la liste pour aggravation. Dans nos CRCM, nous observons que d'une part certains patients se dégradent rapidement (voire décèdent) dans les mois qui suivent leur évaluation et leur inscription sur liste de transplantation et que, d'autre part, environ 30% des patients évalués pour une transplantation sont vivants à deux ans de l'évaluation initiale en l'absence de greffe pulmonaire. De plus, les critères prédictifs d'aggravation - et qui donc devraient mener d'une

part à un renforcement thérapeutique et d'autre part, à une démarche pré-greffe - ne sont pas clairement définis dans la littérature pour le patient mucoviscidosique.

Ces constatations soulignent la nécessité d'optimiser les critères conduisant à l'inscription sur liste de transplantation.

Notre hypothèse est que, pour certains phénotypes de patients, la prise en compte de l'évaluation optimum des composantes de sévérité de la maladie au moment du bilan pré-greffe, et aussi des thérapeutiques mises en œuvre suite au bilan pré-greffe, pourrait influencer sur le cours de la maladie et jouer un rôle dans l'optimisation des critères d'inscription sur liste.

L'étude en cours est une étude observationnelle multicentrique du suivi des patients pédiatriques et adultes ayant effectué une démarche de transplantation dans les 3 CRCM des hôpitaux Cochin, Foch et Necker du 01.01.05 au 31.12.12. Les facteurs étudiés font partie du bilan pré-greffe standardisé entre les 3 centres. Le recueil de données s'étendra de 2 ans avant le bilan à au plus 2 ans après, en notant les dates de décès et de greffe pulmonaire.

Les objectifs de ce projet sont d'évaluer :

- ▶ L'impact du bilan pré-greffe initial sur les modifications de la prise en charge clinique (atteinte respiratoire et comorbidités associées)

- ▶ La conséquence de cette nouvelle prise en charge sur l'évolutivité respiratoire et la mortalité

- ▶ Les facteurs prédictifs d'aggravation et de décès précoces après évaluation (dans un délai inférieur à 3 mois, délai bien inférieur au temps d'attente médian sur liste de greffe)

- ▶ Les caractéristiques spécifiques aux patients ayant une survie prolongée sans greffe, comparées à celles des patients précocement décédés ou greffés.

La première phase de l'étude est une étude préliminaire des caractéristiques des patients adultes à l'inclusion (correspondant au bilan pré-greffe). 237 patients adultes ont bénéficié d'un bilan pré-greffe pulmonaire. Ils ont en moyenne 32 ans, un ratio homme/femme à 1,23. 80 patients ont été greffés. L'étude des causes d'exclusion de l'étude des patients est en cours : 1 refus de patient (qui est aussi un refus de greffe), dossiers incomplets donc inexploitable (dossiers égarés, bilans incomplets car faits en urgence ou pour des patients peu suivis...).

Notre but est de diminuer les aggravations et les décès qui auraient pu être évités par une intervention plus précoce adaptée aux phénotypes des patients et de mieux définir le moment de la transplantation.

Contact : reem.kanaan@cch.aphp.fr



Efficacité métabolique de la greffe combinée de poumon et d'îlots pancréatiques dans la mucoviscidose – étude pilote PIM

Auteurs

Kessler L.¹, Kessler R.¹,
Massard G.¹, Santelmo N.¹,
Moreau F.¹, Greget M.¹, Thivolet C.²,
Colin C.², Benhamou P.-Y.³,
Bosco D.⁴, Pernin N.⁴, Meier R.⁴,
Berney T.⁴

Affiliations

1. Hôpitaux Universitaires de Strasbourg - CRCM Alsace
2. Hospices Civils de Lyon
3. CHU de Grenoble
4. Laboratoire d'isolement d'îlots pancréatiques – Genève et Centre Universitaire Romand de Transplantation

Contexte

Du fait de l'allongement de l'espérance de vie des patients atteints de mucoviscidose un nombre croissant de ces malades atteint le stade de l'insuffisance respiratoire terminale et du diabète. La transplantation pulmonaire représente l'ultime possibilité de traitement chez ces patients. L'existence d'un diabète antérieur à la greffe pulmonaire alourdit la morbi-mortalité post-greffe. La greffe d'îlots pancréatiques est actuellement un traitement du diabète insulino-prive instable. Du fait de sa morbidité moindre par rapport à la greffe de pancréas, la greffe d'îlots pancréatiques combinée à la transplantation pulmonaire est apparue comme une alternative pour le traitement de la mucoviscidose.

Objectif

L'objectif principal de l'étude est d'évaluer l'efficacité métabolique d'une greffe d'îlots pancréatiques associée à la greffe bipulmonaire chez le patient atteint de mucoviscidose. Les objectifs secondaires concernent la

fonction respiratoire, la qualité de vie des patients et enfin la tolérance de la greffe d'îlots pancréatiques.

Méthodes

Cette étude pilote multicentrique (Strasbourg, Grenoble, Lyon, Genève) non contrôlée prospective de phase 1-2 concerne tout patient atteint de mucoviscidose ayant une insuffisance respiratoire terminale indiquant une greffe pulmonaire et un diabète insulino-prive non contrôlé (HbA1c > 7%) malgré une insulinothérapie optimisée. Le diabète insulino-prive est défini par un taux de C-peptide basal inférieur à 0,5 ng/ml ou une absence de réponse du C-peptide au Glucagon évalué par un rapport C-peptide T6 min./C-peptide T0 inférieur à 2. Les critères d'exclusion concernent les atteintes hépatiques avec cytolysé hépatique et l'hypertension portale. Le bloc bipulmonaire et le pancréas sont prélevés à partir du même donneur. Pendant la réalisation de la greffe pulmonaire, le pancréas est traité afin de permettre l'isolement et la culture des îlots pancréatiques pendant une période maximale de 10 jours. La greffe d'îlots, minimum 100 000 îlots équivalents (IEQ) est réalisée sous anesthésie locale par injection portale des îlots par voie transcutanée hépatique 10 jours après la greffe pulmonaire lorsque le patient est extubé. Le traitement immunosuppresseur comprend en induction Simulect et corticoïdes suivis de Prograf, Cellcept et corticoïdes en entretien. Le succès de la greffe est attesté par la fonction des îlots pancréatiques évalués à 12 mois post-greffe par la mesure du C-peptide sanguin

Résultats

Au 1^{er} mai 2013, 3 patients ont été inclus dans l'étude dont 2 ont bénéficié

d'une greffe poumon îlots avec un recul respectif de 10 et 2 mois. Le patient #1, un homme de 35 ans et la patiente #2 une femme de 32 ans avaient un diabète secondaire à la mucoviscidose évoluant respectivement depuis 12 et 13 ans. Les deux patients avaient une insuffisance respiratoire terminale avec hémoptysie à répétition pour le patient #1 et antibiodépendance pour le patient #2. 100 792 IEQ (1679 IEQ/kg) et 127 790 IEQ (2607 IEQ/kg) ont été greffés chez les deux patients respectivement 7 et 5 jours après la greffe pulmonaire. Chez le patient #1, 10 mois après la greffe combinée le VEMS est à 2,68 L contre 1,24 L, le C peptide sanguin est à 1,5 ng/ml contre 0,7 ng/ml en prégreffe, HbA1C a diminué de 9,1 à 6,3% avec une réduction de 60% des besoins en insuline journaliers. Chez la patiente #2, à 2 mois le VEMS est à 1,72 L contre 0,75L le C peptide est à 0,92 ng/ml contre 0,48 ng/ml avant greffe sans modification des besoins en insuline. Aucun effet indésirable de la greffe d'îlots n'a été observé

Discussion/perspectives/conclusion

Les premiers résultats de l'étude PIM sont en faveur d'une restauration de la fonction pulmonaire et métabolique par la greffe combinée poumon îlots. Le faible nombre de patients inclus jusqu'à présent s'explique par les difficultés logistiques d'organisation de la greffe combinée du poumon et des îlots. Le recrutement et la sélection des patients nécessitent pour les centres une importante activité de transplantation pulmonaire et une bonne expertise diabétologique. Une extension de l'étude à d'autres centres est en cours avec la participation de l'Hôpital Foch.

Contact : laurence.kessler@chru-strasbourg.fr

Analyse des interactions entre le profil de la réplication du virus ebv et la réponse cellulaire anti-EBV chez les patients transplantés pulmonaires EBV négatifs

Auteurs

Le Goff J.¹, Adotevi O.², Nere M.-L.¹, Stern M.³, Reynaud-Gaubert M.⁴, Pison C.⁵, Kessler R.⁶, Magnan A.⁷, Guillemain R.⁸

Affiliations

1. Paris Diderot University, Inserm U94,
2. Université de Franche-Comté, Clinical Immunology, UMR 1098 INSERM/EFS/UFC,
3. Pneumologie Hôpital FOCH,
4. CdC HTAP-Maladies Rares Pulmonaires, Hôpital Nord - CHU de Marseille,
5. Pneumologie, CHU Grenoble,
6. Pneumologie CHU Strasbourg, Chirurgie cardiaque, Hôpital européen Georges Pompidou.

Contexte

La transplantation pulmonaire chez les patients séronégatifs pour le virus EBV (R-) à partir de greffons de donneurs séropositifs pour EBV (D+) est suivie d'une primo-infection EBV. Dans 50 à 80% des cas celle-ci se complique par

une lymphoprolifération, menaçant le pronostic vital ou celui du greffon. Les résultats d'études préliminaires suggèrent que lors de greffes de cellules souches hématopoïétiques, une réponse lymphocytaire T anti-EBV ou une immunothérapie anti-CD20 pourrait contrôler ces lymphoproliférations. Ces données n'ont à ce jour pas été confirmées en transplantation pulmonaire et l'utilisation d'anti-CD20, dont il n'existe pas d'AMM dans ce contexte, peut être associée à d'autres complications infectieuses.

Objectif

Mettre en évidence les marqueurs de la réplication EBV et de la réponse cellulaire T anti-EBV associées à une lymphoprolifération EBV chez des transplantés pulmonaires EBV D+/R-.

Méthodes

Étude cas-témoin prospective multicentrique incluant 15 patients D+/R- et un groupe témoin de 15 à 45 patients

D+/R+ apparié selon le statut sérologique CMV du donneur et du receveur. La réplication, le profil d'expression et la variabilité EBV seront analysés par PCR en temps réel et génotypage, la réponse lymphocytaires T CD4 et CD8 anti-EBV à l'aide de techniques Elispot, Tétramères, tests de prolifération et marquage intracellulaire de cytokines. Chaque patient sera suivi 2 ans.

Résultats

Huit patients EBV- et 32 patients EBV+ ont été inclus. Les résultats de quantification virale et des réponses cellulaires anti-EBV seront présentées.

Discussion/perspectives/ conclusion

L'analyse conjointe de la réplication et de la réponse cellulaire T permettront d'identifier les patients à risque de développer des lymphoproliférations et de rationaliser la prise en charge thérapeutique des proliférations EBV.

Contact : jerome.le-goff@sls.aphp.fr



Le fonctionnement psychosomatique des patients atteints de mucoviscidose confrontés à la transplantation pulmonaire. Les facteurs psychiques favorables à la survie

Auteur

Legros-Roussel S., psychologue

Contexte

L'étude d'une population de 21 adultes atteints de mucoviscidose entre 2001-2004* avait permis préalablement de s'interroger sur les particularités du fonctionnement psychique et sur les modifications de l'économie psychosomatique engagées lorsque le poids de la réalité somatique augmente avec l'aggravation de la fonction respiratoire et la perspective de greffe qui se profile. La pesée traumatique peut devenir telle du fait de l'invalidité engendrée que l'utilisation de mécanismes psychiques archaïques tels que le déni ou le clivage sont massivement utilisés pour traiter l'angoisse de mort et favoriser la survie tant psychique que physique. Les perspectives tant nouvelles qu'inconnues ouvertes par la greffe nécessitent une réorganisation massive du fonctionnement tant psychique que somatique. La compréhension des facteurs contribuant à l'équilibre psychosomatique s'avère donc déterminante pour préjuger de la survie des sujets suite à l'épreuve de la transplantation.

Objectif

A défaut de pouvoir suivre de manière longitudinale une même population de sujets en amont et aval de la greffe, il a été retenu le cas de 10 sujets confrontés de près à sa perspective et/ou à sa réalisation permettant d'illustrer les

caractéristiques de fonctionnement à différentes étapes du processus d'annonce, d'attente, de réalisation et de vécu de la greffe (entretiens cliniques et tests projectifs). En effet, ces situations mettent à l'épreuve la tolérance à l'angoisse et à la dépression des patients et pose la question du fonctionnement psychique semblant être le plus efficace pour « survivre » à cette réalité de la greffe et l'inscription, la traversée de la mort par le corps. En effet la réalisation de la greffe suppose la prise en compte de son caractère thérapeutique ultime, l'intégration de certains deuils (de ses poumons, d'un corps indemne de cicatrice) mais aussi l'appréhension d'un nouveau corps, d'une nouvelle vie où les enjeux professionnels, sentimentaux et parentaux ne sont pas si évidents à construire car la stabilité somatique restant incertaine et aléatoire.

Résultats

Tandis que certains sujets ne survivent pas à l'attente de la greffe, certains ne survivent pas au déséquilibre suscité par sa réalisation. En effet, malgré une jouissance respiratoire retrouvée, de nouvelles contraintes thérapeutiques (suivi et surveillance du traitement anti-rejet) et complications somatiques potentielles peuvent se présenter. Même si les tests projectifs évoquent une plus grande fluidité de la pensée, il n'est pas rare de constater l'apparition de processus dépressifs suite à la réalisation de la transplantation, ainsi que des complications somatiques aussi inexplicables que brutales pouvant s'avérer fatales. Certains « démissionnent » dans ses

suites immédiates en sombrant dans un processus dépressif ou dans des équivalents suicidaires par des comportements à risques comme des arrêts de traitement. En effet, pour ceux qui avaient utilisé le déni comme mode de défense privilégié contre l'angoisse de mort jusqu'à la greffe, le risque de désorganisation somatique est majeur lorsque celui-ci n'a plus lieu d'être lorsque la greffe se trouve réalisée. Ainsi les sujets qui s'inscrivaient dans un contrôle au plus long cours de la maladie s'avèrent moins atteints par cette épreuve de réalité.

Perspectives

La période de la transplantation pulmonaire constitue une période sensible où le maintien de l'équilibre psychosomatique s'avère vital. Les sujets éprouvés par la maladie chronique chercheront souvent auprès des référents médicaux un interlocuteur solide face à une réalité somatique lourde. Les soignants prennent souvent une valeur d'échappatoire externe lorsque les ressources somatiques s'avèrent épuisées et le tonus psychique s'effondre. Un accompagnement contenant, des interventions stimulantes et une présence manifeste et répétée du clinicien peut venir compléter le travail des équipes soignantes, prioritairement tournées vers les soins somatiques.

La compréhension du fonctionnement psychique spécifique à chaque sujet permet de travailler à favoriser un investissement de la réalité avec réassurance, seul garant de l'équilibre psychosomatique.

Contact : sofie.legros@yahoo.fr

Le transfert de gène du CD40Ig ne prévient pas le rejet en allogreffe de rein chez le primate-non humain

Auteurs

Angin M.^a, Poirier N.^a, Dilek N.^a,
Le Guiner C.^b, Toromanoff A.^b,
Blancher A.^c, Cherel Y.^d,
Deschamps J.-Y.^d, Tillou X.^a,
Renaudin K.^e, Minault D.^a,
Hervouet J.^a, Blancho G.^a,
Vanhove B.^a, Anegon I.^a,
Le Mauff B.^{a, f}

Affiliations

- a. INSERM UMR 1064—Center for Research in Transplantation and Immunology, CHU de Nantes, IUN, Nantes, Université de Nantes, Nantes, France
b. INSERM 1089, IRT UN, Université de Nantes, Faculté de Médecine, Nantes, France
c. Laboratoire d'Immunogénétique Moléculaire, EA 3034, Faculté de Médecine Purpan, Université Paul Sabatier, Toulouse 3, Toulouse, France
d. IINRA UMR 703, Ecole Nationale Vétérinaire, Nantes, France
e. Centre Hospitalier Universitaire Hôtel Dieu, Service d'Anatomie Pathologique, Nantes, France
f. ICHU de Caen, Laboratoire d'Immunologie et Immunopathologie, Caen, F-14000, France

Contexte

Le blocage des signaux de co-stimulation nécessaires à l'activation de la réponse immune, tels que CD40/CD40L ou CD28/B7 est une stratégie qui peut permettre de prévenir le rejet de greffe voire d'induire une tolérance spécifique du donneur. Chez le rongeur, les antagonistes de CD28/B7 dont le CTLA4Ig induisent des T régulateurs et la tolérance du greffon alors que chez le primate, les anticorps anti-CD40, CD40L ou le CTLA4Ig, utilisés en monothérapie ne permettent que de retarder le rejet.

Objectif

Nous souhaitons évaluer l'effet tolérogène de la molécule hCD40Ig dans un modèle de transplantation chez le primate non-humain. Les propriétés fonctionnelles *in vitro* du hCD40Ig ont été comparées à celles d'anticorps anti-CD40L connus pour leur efficacité *in vivo*.

Méthodes

Nous avons utilisé une méthode de transfert de gènes par vecteurs viraux de type AAV (virus associés aux adénovirus) pour faire produire la molécule de fusion CD40Ig humaine (hCD40) chez des primates (macaques). Nous avons ensuite évalué l'effet de l'inhibition du signal CD40/CD40L sur la survie d'une allogreffe de rein.

Résultats

Notre stratégie de transfert de gène permet d'obtenir un taux circulant élevé de hCD40Ig en quelques semaines en nous évitant une production à grande échelle de la molécule recombinante. Bien que le hCD40Ig se fixe efficacement au CD40L humain ou de macaque, et malgré des taux circulants élevés (>200 µg/ml) aucune prolongation de la survie des greffons n'a été obtenue. De plus, nous n'avons pas observé d'inhibition des réponses vaccinales humorales testées en parallèle. *In vitro*, nous avons pu observer que le hCD40Ig stimulait les réponses dans des cultures mixtes lymphocytaires et qu'il était moins efficace que l'anti-CD40L h5C8 pour induire des mécanismes de cytotoxicité dépendant du complément.

Discussion/perspectives/conclusion

Ces résultats, obtenus avec une molécule de fusion CD40Ig non déplétante, montrent que cette stratégie ne permet pas de moduler la réponse chez le primate, contrairement à ce qui a été montré chez les rongeurs. Une fois encore, le modèle pré-clinique du primate souligne les différences biologiques entre ces deux types de modèles *in vivo*.



Projet COLT - Cohort in lung transplantation

Auteurs

Botturi K.¹, Stern M.², Reynaud-Gaubert M.³, Kessler R.⁴, Dromer C.⁵, Mussot S.⁶, Danner-Boucher I.¹, Pison C.⁷, Brugière O.⁸, Boussaud V.⁹, Mornex J.-F.¹⁰, Dahan M.¹¹, Knop C.¹², **Magnan A.**¹

Affiliations

1. UMR_S 1087 CNRS UMR_629, L'institut du thorax, Université de Nantes, CHU de Nantes ;
2. Hôpital Foch, Suresnes ;
3. CHU de Marseille ;
4. Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ;
5. CHU de Bordeaux ;
6. Centre Chirurgical Marie Lannelongue, Le Plessis Robinson,
7. CHU de Grenoble,
8. Hôpital Bichat, Paris ;
9. Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris ;
10. CHU de Lyon ;
11. CHU de Toulouse ;
12. Hôpital Erasme, Bruxelles

Contexte

La dysfonction chronique de greffon (CLAD) représente la principale complication à long terme de la transplantation pulmonaire. Bien qu'une meilleure maîtrise des traitements immunosuppresseurs ait permis d'en diminuer l'incidence, le CLAD survient encore dans 35 à 50% des cas dans les 2 à 5 ans. La physiopathologie du CLAD est encore largement inconnue. On sait toutefois qu'il s'agit d'un processus immunologique dans lequel plusieurs populations cellulaires et médiateurs sont impliqués, sans qu'il soit possible

de dire lesquels sont mis en jeu précocement, faute d'étude prospective longitudinale.

Objectif

COLT (COhort in Lung Transplantation) consiste en la mise en commun par les centres de transplantation pulmonaire français des données cliniques, biologiques, fonctionnelles et radiologiques des malades, recueillies de façon prospective et standardisée dans une base de données commune et associée à la constitution d'une biocollection de cellules, ADN, ARN, tissus, sérum et plasma.

Méthodes

Les patients sont inclus à l'inscription sur liste d'attente de transplantation et revus le jour de la transplantation, à 1 et à 6 mois post-greffe, puis tous les 6 mois pendant 5 ans. Lors de la transplantation un prélèvement sanguin du donneur et du receveur sont réalisés et une biopsie de poumon natif stockée. A chaque visite de suivi, un prélèvement sanguin et une spirométrie sont réalisés. Un LBA et/ou 2 biopsies transbronchiques sont obtenus dans le cadre du suivi systématique des patients, ou en cas de suspicion de rejet ou d'infection pulmonaire. Le programme de recherche associé à COLT s'articule autour de plusieurs axes de valorisation de la cohorte, portés par les équipes impliquées dans COLT et utilisant des approches scientifiques complémentaires (immunologie, génomique, protéomique, transcriptomique).

Résultats

Mis en place fin 2009, COLT, initialement prévu autour de 7 centres et 100 patients, a finalement permis le rapprochement des 11 centres français de transplantation pulmonaire et la constitution d'un réseau pérenne autour d'une cohorte de plus de 1000 patients dont 755 transplantés (72,7%). Les indications de transplantation sont dans l'ordre décroissant la mucoviscidose, la BPCO/emphysème, la fibrose, l'HTAP, les DDB et autres. La moyenne d'âge des receveurs est de 43,9±15,5 ans. 65,5% des transplantés ont reçu une transplantation bi-pulmonaire et la survie à 2 ans est de 75%.

Le développement Européen de COLT, envisagé courant 2011, a été concrétisé par le biais du projet Européen SysCLAD «Systeme Biology in Chronic Lung Allograft Dysfunction» qui depuis 2013, permet d'associer aux 11 centres Français, le centre de Bruxelles (Belgique), ainsi que la cohorte Suisse de transplantés pulmonaires (STCS) par le biais des centres de Lauzanne-Genève et Zurich. Ce projet permet également la valorisation de la collection biologique COLT de plus de 30 000 échantillons.

Discussion/perspectives/conclusion

Ainsi, par la mise en commun de compétences européennes autour de la transplantation pulmonaire, l'équipe COLT souhaite permettre l'identification de nouvelles cibles potentielles pour de futurs traitements du rejet chronique de transplantation pulmonaire.

Contact : antoine.magnan@univ-nantes.fr

Étude du transcriptome sanguin chez des patients en insuffisance respiratoire chronique, signatures communes et spécifiques

Auteurs

Chesné J.¹, Danger R.², Botturi K.¹, Reynaud-Gaubert M.³, Mussot S.⁴, Stern M.⁵, Danner-Boucher I.¹, Mornex JF.^{6,7,8,9}, Pison C.^{10,11,12,13}, Dromer C.¹⁴, Kessler R.¹⁵, Dahan M.¹⁶, Brugière O.¹⁷, Le Pavec J.⁴, Perros F.^{18,19,20}, Humbert M.^{18,19,20}, Gomez C.³, Brouard S.^{2*}, Magnan A.^{1*} et le COLT consortium

Affiliations

1. UMR_S 1087 CNRS UMR_6291, l'Institut du Thorax, Université de Nantes, CHU de Nantes, Nantes ;
2. UMR_S 1064, ITUN, CHU de Nantes, Nantes, France ;
3. CHU de Marseille, Aix Marseille Université, Marseille, France ;
4. Centre Chirurgical Marie Lannelongue, Service de Chirurgie Thoracique, Vasculaire et Transplantation Cardiopulmonaire, Le Plessis Robinson, France ;
5. Hôpital Foch, Suresnes, France ;
6. Université de Lyon, Lyon, France ;
7. Université de Lyon 1, F-69007 Lyon, France ;
8. INRA, UMR754, Lyon, France ;
9. Hospices Civils de Lyon, Lyon, France ;
10. Clinique Universitaire Pneumologie, CHU de Grenoble, Grenoble, France ;
11. Université Joseph Fourier, Grenoble, France ;
12. Inserm U1055, Grenoble, France ;
13. European Institute of Systems Biology and Medicine, Lyon, France ;
14. CHU de Bordeaux, Bordeaux, France ;
15. CHU de Strasbourg, Strasbourg, France ;
16. CHU de Toulouse, Toulouse, France ;
17. Hôpital Bichat, Service de Pneumologie B et Transplantation Pulmonaire, Paris, France ;
18. Université Paris-Sud, Le Kremlin-Bicêtre, France ;
19. AP-HP, Service de Pneumologie, DHU Thorax Innovation, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France ;
20. INSERM U999, LabEx LERMIT, Centre Chirurgical Marie Lannelongue, Le Plessis Robinson, France.

Contexte

La Mucoviscidose (CF), l'Hypertension Artérielle Pulmonaire (HTAP) et la Broncho-Pneumopathie Chronique Obstructive (BPCO) sont des pathologies qui peuvent aboutir à une insuffisance respiratoire chronique terminale induisant ainsi des modifications du métabolisme. L'expression génique des cellules du sang périphérique est susceptible d'être affectée par ces changements.

Objectif

L'objectif de cette étude était d'identifier dans le sang (1) une signature de gènes commune aux trois maladies et donc associée à l'insuffisance respiratoire chronique (CRF) et (2) des signatures de gènes spécifique de chaque pathologie.

Méthodes

Une analyse transcriptomique par puce à ADN a été réalisée sur le sang de patients CF (n=23), HTAP (n=13) sélectionnés à partir d'une cohorte de transplantés pulmonaires (COLT) et des volontaires sains (HV) issus de l'EFS (n=28). Grâce à des outils bioinformatiques, nous avons identifié trois signatures de gènes dont une commune aux groupes CF et HTAP associée à l'insuffisance respiratoire et deux spécifiques de chaque maladie (CF versus HV; HTAP versus HV). Les signatures identifiées ont été validées sur une cohorte externe par PCR quantitative.

Résultats

L'analyse par clustering nous a permis d'identifier deux clusters de gènes sous-exprimés associés à l'insuffisance respiratoire (CF et HTAP versus HV). Parmi ces clusters, nous avons mis en évidence une sur-représentation de gènes impliqués dans la fonction et l'activation lymphocytaire T, notamment T-Cell Factor 7 and Interleukin 7 Receptor. De plus, nous avons identifié des clusters de gènes surexprimés spécifiques de CF (Toll Like Receptor 4) et de l'HTAP (Lectin Galactoside-binding Soluble 3). La sous ou sur-expression de ces gènes a été validée par qPCR sur des échantillons indépendants issus d'une cohorte externe de patients.

Conclusions

Notre étude transcriptomique a permis d'identifier dans le sang de nouveaux gènes, impliqués dans la physiopathologie de la mucoviscidose et de l'HTAP. Nous avons été en mesure de confirmer chez les patients CF, HTAP et BPCO, la sous-expression de 3 gènes communs associés à l'insuffisance respiratoire. Nous décrivons pour la première fois une signature de gènes sous-exprimés impliqués dans les fonctions immunes et partagées par les patients CRF.

Contact : antoine.magnan@univ-nantes.fr / julie.chesne@univ-nantes.fr



Évaluation du rapport bénéfice/risque après transplantation pulmonaire : étude Belt. Follow-up de l'étude stimmugrep.

Auteurs

Monchaud C.^{1,2}, Marquet P.^{1,2}

Affiliations

1. INSERM UMRS-850, Université de Limoges, 2, avenue du Dr Marcland, 87025 Limoges cedex
2. Service de Pharmacologie, toxicologie et pharmacovigilance, CHU de Limoges, 2, avenue Martin Luther King, 87042 Limoges cedex

Contexte

Dans son évolution ultime, la mucoviscidose conduit à une insuffisance respiratoire terminale nécessitant le recours à une transplantation pulmonaire. Entre 1995 et 2011, 17% des patients transplantés pulmonaires étaient atteints de mucoviscidose. [Christie JD et al. J Heart Lung Transplant 2012]

En transplantation pulmonaire (TxP), les événements compromettant la survie des patients sont nombreux et se produisent à des délais post-greffe variables. Les études cliniques comparant différentes stratégies immunosuppressives, dont le critère de jugement principal est la mortalité, nécessitent de larges populations et/ou de longues durées de suivi. Lorsque le critère de jugement principal est un critère intermédiaire tel que le rejet aigu, l'objectif principal est basé sur l'hypothèse selon laquelle ce critère est prédictif de la morbi-mortalité à long terme.

L'utilisation d'un critère d'évaluation composite (« composite endpoint », CEP) validé sur sa capacité à prédire la survie à long terme permettrait de réduire le nombre de patients à inclure et la durée des études, et d'améliorer l'évaluation des stratégies testées.

Nous avons organisé et modéré une conférence de consensus internationale selon la méthode Delphi, en collaboration avec les sociétés savantes ISHLT et TTS, visant à proposer un CEP. Sa validation dans une cohorte de patients transplantés pulmonaires suivis 5 ans après la greffe [correspondant à une survie d'environ 50% [Stewart S et al. J Heart Lung Transplant 2007]] est nécessaire avant qu'il puisse être utilisé dans des essais cliniques sur les immunosuppresseurs en TxP.

Objectif

L'objectif principal de l'étude BELT est de valider le critère d'évaluation composite (CEP), élaboré par la conférence de consensus internationale Delphi, sur sa capacité à prédire la survie à 5 ans des patients transplantés pulmonaires.

Méthodes

Étude de cohorte longitudinale multicentrique, non interventionnelle, rétrospective. Les patients éligibles sont ceux qui ont participé à l'étude Stimmugrep et qui ne s'opposent pas au recueil de leurs données médicales.

L'étude STIMMUGREP menée chez des transplantés pulmonaires, atteints (n=52) ou non (n=69) de mucoviscidose, pendant la 1^{ère} année post-greffe a permis de recueillir des données anamnestiques, cliniques, biologiques et pharmacocinétiques sur les immunosuppresseurs. La base de données constituée grâce à l'étude Stimmugrep, ainsi qu'un recueil rétrospectif des données de suivi des patients de cette cohorte sur 4 ans après la fin de leur participation à l'étude, permettra de valider et d'affiner le CEP obtenu à l'issue de la conférence de consensus.

Résultats

Peuvent être inclus dans l'étude BELT les 121 patients ayant participé à STIMMUGREP, suivis dans 7 centres en France et en Belgique. A ce jour, 5 centres ont été ouverts et les données ont été recueillies pour 30 patients dans 4 centres. Le recueil des données devrait s'achever en juin 2014.

Discussion/perspectives/conclusion

Les résultats de cette étude devraient permettre de valider un score visant à améliorer la prise en charge des patients transplantés pulmonaires atteints ou non de mucoviscidose, mais aussi la méthodologie d'essais cliniques prospectifs.

Contact : caroline.monchaud@inserm.fr / pierre.marquet@unilim.fr

L'essai clinique BASALT (bayesian dose adjustment of immunosuppressants after lung transplantation)

Auteurs

Marquet P.^{1,2}, Monchaud C.^{1,2}

Affiliations

1. INSERM UMR 850, Limoges, France ;
2. CHU Limoges, France.

Contexte

L'individualisation thérapeutique par suivi thérapeutique pharmacologique (STP) des immunosuppresseurs est largement utilisée en transplantation d'organe solide afin d'optimiser l'efficacité tout en minimisant la toxicité. Il peut être basé sur le suivi de concentrations à un temps donné (concentration résiduelle, C0) ou sur l'aire sous la courbe (AUC), proportionnelle à la concentration moyenne sur l'intervalle entre deux doses.

L'étude APOMYGRE en transplantation rénale (avec ciclosporine, MMF et corticoïdes) a démontré que l'adaptation de posologie basée sur l'estimation Bayésienne de l'AUC de l'acide mycophénolique (ou MPA, métabolite actif du MMF) à plusieurs reprises au cours de la première année post-transplantation permettait de réduire significativement l'incidence des échecs du traitement immunosuppresseur, en particulier les rejets aigus (1) avec des coûts de santé non significativement supérieurs dans le bras «ajusté» par rapport au bras témoin (2).

L'étude STIMMUGREP de pharmacocinétique de population en transplantation pulmonaire a mis en évidence une importante variabilité interindividuelle de la pharmacocinétique et donc de l'AUC du tacrolimus et du MPA, chez les patients atteints et non atteints de mucoviscidose (3, 4). Cette étude a permis d'établir les cibles d'AUC0-12h du tacrolimus correspondant aux cibles recommandées de C0 et de mettre au

point des modèles pharmacocinétiques et des estimateurs Bayésiens permettant l'estimation de l'AUC du tacrolimus, de la ciclosporine et du MMF dans ces deux sous-populations (mucoviscidose ou non). BASALT a été conçue comme une étude comparable à APOMYGRE, adaptée à la transplantation pulmonaire. Ses objectifs et son design ont été largement discutés avec l'ensemble des investigateurs, lors de deux réunions en mai et septembre 2008.

Objectif principal

Evaluer, à l'issue de la troisième année de greffe pulmonaire, dans la population en intention de traiter, l'apport du STP «optimisé» (basé sur le suivi des AUC) du tacrolimus et du MMF :

- Par comparaison à la meilleure stratégie actuelle (adaptation de posologie du tacrolimus sur la base de son C0 et dose standard de MMF, pouvant être modifiée en cas d'inefficacité ou d'effets indésirables attribuables au MMF),
- En termes d'incidence des échecs du traitement (décès, perte du greffon, épisode de rejet aigu (ERA) du greffon, syndrome de bronchiolite oblitérante (BOS), arrêt définitif ou interruption de plus de 7 jours du tacrolimus ou du MMF) au cours des 3 années de suivi.

Méthodes

Essai multicentrique prospectif comparatif, randomisé, ouvert, de stratégies thérapeutiques, chez des patients : atteints ou non de mucoviscidose ayant bénéficié d'une première greffe pulmonaire ; des deux sexes, âgés de 18 ans ou plus ; traités par tacrolimus et MMF par voie orale depuis 48 heures minimum à l'inclusion (entre J5 et J7 post-greffe) ; ne présentant pas de maladie intercurrente évolutive mettant en jeu à court terme le pronostic vital ou le pronostic du greffon ; ayant donné leur

consentement libre et éclairé par écrit pour participer à cette étude ; affiliés à un régime de sécurité sociale. 90 patients devaient être recrutés en 24 mois dans chaque groupe (STP «optimisé» et suivi «usuel»). La randomisation était réalisée lors de la visite d'inclusion. Pour mener ce projet, des financements ont été obtenus auprès du PHRC national 2008 (480 000 euros), de l'association Vaincre La Mucoviscidose (301 000 euros) et de la société Astellas (50 000 euros).

Résultats

En France, toutes les autorisations légales ont été obtenues en mars 2009 et en Belgique fin 2010. Sur 11 centres prévus à l'origine, 4 ont retiré leur accord de participation. Deux autres n'ont jamais accepté de convenir d'une date pour l'ouverture de l'essai. Quatre centres français ont été ouverts entre septembre 2009 et février 2010, le centre de Bruxelles a été ouvert début 2010. Le premier patient a été inclus en décembre 2009, mais en janvier 2011 seuls 12 patients avaient été inclus, pour un nombre attendu de 90. Une réunion des investigateurs a été tenue en mars 2010 pour tenter de remédier à cette lenteur d'inclusion. Des amendements ont été déposés en juin et décembre 2010 pour répondre aux réticences de certains investigateurs et renforcer le nombre d'investigateurs et le potentiel d'inclusions. Une convention a été discutée avec le porteur de projet COLT (CHU de Nantes), concomitant à BASALT, pour tenter de rendre compatibles ces deux études chez les mêmes patients, en particulier en limitant le volume de sang prélevé (très important dans COLT), puis abandonnée car les avantages ont été jugés négligeables. En Belgique, l'absence d'indication du MMF en greffe pulmonaire à cette époque, a rendu nécessaire la



recherche de financements complémentaires pour acheter le médicament, ce qui a pris beaucoup de temps et a au final empêché l'équipe d'inclure des patients pendant la période d'ouverture du centre. Des tentatives d'ouverture d'autres centres de transplantation pulmonaire, en Suisse et en Allemagne, ont été faites sans succès.

Le CHU de Limoges a organisé 2 comités de suivi de l'étude fin 2009 et en 2010 pour évoquer les mesures mises en œuvre, avant une décision d'arrêt prise le 5 janvier 2011 sur proposition de l'investigateur principal.

Discussion/conclusion

Malgré l'engagement (verbal) initial de 11 équipes de transplantation pulmonaire, seules 5 ont mis en place l'essai dont 3 ont inclus des patients (Grenoble ayant inclus 10 patients sur 12 au final). Les principaux freins à l'engagement des équipes dans cette étude étaient liés : 1) aux habitudes très diverses de prescription des centres, qui ne correspondaient pas aux schémas thérapeutiques proposés dans les deux bras ; 2) à l'absence de conviction quant à l'intérêt du suivi thérapeutique du MMF, et/ou d'un suivi optimisé du tacrolimus. Un autre frein à l'inclusion des patients dans les centres ouverts a été la concurrence, pour le recrutement des patients, avec l'étude COLT, également subventionnée par le PHRC national et Vaincre La Mucoviscidose (1 an après BASALT). COLT ne

modifiant pas les habitudes de prise en charge thérapeutique des patients, elle s'est révélée beaucoup plus acceptable par l'ensemble des équipes, quelles que soient leur habitudes ; en revanche, COLT nécessitant des prélèvements multiples, les quelques prélèvements supplémentaires nécessités par BASALT ont été mal acceptés par les investigateurs, les encourageant à ne pas inclure les patients dans BASALT. Il est à noter que les deux études prévoyaient d'inclure la majorité des patients transplantés pulmonaires chaque année en France, ce qui n'a pas empêché les organismes d'évaluation et de financement de les soutenir toutes les deux, successivement (BASALT en 2008, COLT en 2009).

Les résultats de cette étude devaient permettre de démontrer l'intérêt de la double adaptation de posologie optimisée du tacrolimus et du mycophénolate mofétil et d'améliorer la prise en charge des patients recevant une greffe pulmonaire. Un bénéfice secondaire attendu était une meilleure standardisation des traitements immunosuppresseurs, sur la base des preuves cliniques disponibles, dans les centres de transplantation français. À notre connaissance, ces deux résultats n'ont pas été obtenus depuis par d'autres équipes. En revanche, cet échec devrait conduire les agences d'évaluation et les financeurs à prendre en compte le nombre limité de transplantation pulmonaire en France et à évaluer de façon attentive la faisabilité des essais cliniques dans cette indication.

Références

- 1) Le Meur Y, Büchler M, Thierry A, Caillard S, Villemain F, Lavaud S, Etienne I, Westeel PF, Hurault de Ligny B, Rostaing L, Thervet E, Szelag JC, Rérolle JP, Rousseau A, Touchard G, Marquet P. Individualized mycophenolate mofetil dosing based on drug exposure significantly improves patient outcomes after renal transplantation. *Am J Transplant.* 2007 Nov;7(11):2496-503. Epub 2007 Oct 1.
- 2) Rousseau A, Laroche ML, Venisse N, Loichot-Roselmac C, Turcant A, Hoizey G, Compagnon P, Hary L, Debruyne D, Saivin S, Jacqz-Aigrain E, Buchler M, Villeneuve C, Vergnenègre A, Le Meur Y, Marquet P. Cost-effectiveness analysis of individualized mycophenolate mofetil dosing in kidney transplant patients in the APOMYGRE trial. *Transplantation.* 2010 May 27;89(10):1255-62.
- 3) de Winter BC, Monchaud C, Prémaud A, Pison C, Kessler R, Reynaud-Gaubert M, Dromer C, Stern M, Guillemain R, Knoop C, Estenne M, Marquet P, Rousseau A. Bayesian estimation of mycophenolate mofetil in lung transplantation, using a population pharmacokinetic model developed in kidney and lung transplant recipients. *Clin Pharmacokinet.* 2012 Jan 1;51(1):29-39.
- 4) Monchaud C, de Winter BC, Knoop C, Estenne M, Reynaud-Gaubert M, Pison C, Stern M, Kessler R, Guillemain R, Marquet P, Rousseau A. Population pharmacokinetic modelling and design of a Bayesian estimator for therapeutic drug monitoring of tacrolimus in lung transplantation. *Clin Pharmacokinet.* 2012 Mar 1;51(3):175-86.

La cardioplégie améliore-t-elle la préservation bronchique après le prélèvement bi-pulmonaire ?

Auteurs

Glorion M., Dorfmueller P.,
Noly P.-E., Fadel E., Mercier O.

Affiliation

Laboratoire de Recherche Chirurgicale
centre Chirurgical Marie Lannelongue,
Le Plessis Robinson, France

Contexte

La transplantation bipulmonaire reste le traitement de référence des maladies pulmonaires terminales avec une survie à 5 ans estimée aujourd'hui à 50%. Malgré d'important progrès, les complications bronchiques restent responsables d'une morbi-mortalité non négligeable. L'existence d'anastomoses coronaro-bronchique au niveau de la microvascularisation est connue. Nous avons fait l'hypothèse que la cardioplégie permettrait d'améliorer la préservation de la bronche proximale et diminuerait le risque de complication bronchique.

Objectif

L'objectif de notre étude était d'évaluer si l'adjonction d'une cardioplégie lors du prélèvement bi pulmonaire améliorerait la préservation des bronches proximales.

Méthodes

Nous avons voulu confirmer l'existence d'anastomoses coronarobronchique par injection d'encre intracoronaire sur des blocs cœur poumon prélevés chez le porcelet (n=3).

Puis, 3 groupes de 5 porcelets ont été comparé. Les poumons étaient prélevés selon la technique habituelle dans le groupe 1, en réalisant une pneumoplégie antérograde de 1,5 litres et rétrograde de 0,5 litre avec du Perfadex®. Nous avons ajouté une cardioplégie antérograde (1 litre de Perfadex®) dans le groupe 2. Ces deux groupes ont été comparé à un groupe témoin où la pneumoplégie était réalisée avec du serum physiologique.

Après 24 h de préservation à 4 °C, le taux d'apoptose était évalué sur l'épithélium et dans le chorion de la bronche souche droite par une méthode colorimétrique de marquage TUNEL.

Résultats

La présence d'anastomoses coronaro-bronchique chez le porcelet a été confirmée en retrouvant l'encre injectée dans les coronaires, dans les artères bronchiques sur des coupes histologiques.

Le taux d'apoptose dans le chorion bronchique n'était pas différent entre les groupes 1 et 2 (0.387 ± 0.15 vs $0.368 \pm 0.14 \cdot 10^{-3} \text{cells} \cdot \mu\text{m}^{-2}$, p=ns), mais il était significativement augmenté dans le groupe témoin ($3.28 \pm 1.4 \cdot 10^{-3} \text{cells} \cdot \mu\text{m}^{-2}$, p<0.05).

Le taux d'apoptose dans l'épithélium bronchique n'était pas différent entre les groupes 1 et 2 (0.946 ± 0.37 vs $0.931 \pm 0.48 \cdot 10^{-3} \text{cells} \cdot \mu\text{m}^{-2}$, p=ns), mais il était significativement augmenté dans le groupe témoin ($1.01 \pm 0.5 \cdot 10^{-3} \text{cells} \cdot \mu\text{m}^{-2}$, p<0.05).

Discussion/perspectives/ conclusion

L'adjonction d'une cardioplégie au protocole habituel de prélèvement n'améliore pas la préservation des bronches malgré la présence d'anastomose coronaro-bronchique.



Douleur aiguë et chronique en transplantation pulmonaire : prévalence, facteurs associés, prise en charge

Auteurs

Michel-Cherqui M.^{1,2}, Ley L.¹,
Szekely B.^{1,2}, Dreyfus J.-F.³,
Fischler M.¹

Affiliations

1. Unité de coordination douleur, Hôpital Foch, 40 rue Worth, 92150 Suresnes
2. Service d'Anesthésie, Hôpital Foch, 40, rue Worth, 92150 Suresnes
3. Unité de Recherche Clinique, Hôpital Foch, 40, rue Worth, 92150 Suresnes

Contexte

La douleur chronique est fréquente en occident où elle touche près de 20 % de la population. Cette prévalence a été peu évaluée chez les greffés et futurs greffés pulmonaires. Notre unité de coordination douleur assure, chez ces patients, et en coordination avec les équipes soignantes, la prise en charge médicamenteuse et non médicamenteuse de la douleur avant la greffe, en postopératoire, dans les services de réanimation et soins intensifs, et à distance de la transplantation.

Objectif

Etudier la prévalence, les caractéristiques et les facteurs associés à la douleur chez les patients lors de leur inscription sur la liste d'attente de transplantation pulmonaire, puis 3 mois, 6 mois, 1, 2 et 3 ans après la transplantation.

Méthodes

Entre juin 2008 et janvier 2012, les patients devant bénéficier d'une transplantation pulmonaire et ayant donné leur consentement ont participé à cette étude prospective. Une consultation avec un anesthésiste spécialiste de la prise en charge de la douleur avait lieu lors de l'inscription sur la liste de greffe au cours de laquelle un premier questionnaire était rempli. Une deuxième consultation avait lieu à l'issue du séjour en soins intensifs, puis des questionnaires étaient remplis 3 mois, 6 mois puis 1,2 et 3 ans après la greffe. Ceux-ci permettaient de recueillir des scores de douleur (échelles numériques), de caractériser la douleur (Questionnaire de Saint-Antoine, DN4), de recueillir des scores d'anxiété et de dépression, des scores de qualité de vie, ainsi que les traitements mis en œuvre.

Résultats

Cent quarante-trois patients ont participé à l'étude. Avant transplantation, la prévalence de la douleur était de 58,7%. Sur les 143 patients, 53% présentaient des scores d'anxiété significatifs. Les douleurs dorso-lombaires étaient le plus fréquemment décrites. Comparativement aux patients non douloureux, les patients douloureux étaient plus jeunes ($p=0,03$), de sexe féminin ($p=0,0002$), souffrant de mucoviscidose ($p=0,003$), diabétiques ($p=0,004$), anxieux ($p=0,0004$) et déprimés ($p=0,05$). La présence d'une douleur était liée à 3 facteurs de risques

indépendants : le sexe féminin ($p=0,003$), la mucoviscidose ($p=0,02$), et les scores de dépression ($p=0,02$). Parmi les patients douloureux, 39,2% utilisaient quotidiennement des analgésiques et 19% avaient recours à des techniques non médicamenteuses telles que la relaxation, l'hypnose, et la stimulation électrique nerveuse transcutanée (transcutaneous electrical nerve stimulation TENS).

Les résultats obtenus après transplantation sont en cours d'analyse, cependant à 6 mois et sur les 91 patients ayant répondu, la prévalence de la douleur restait élevée (63%), alors que les scores d'anxiété significatifs n'étaient plus que de 16%. 72% des patients douloureux avant la greffe l'étaient encore à 6 mois. À 1 an, la prévalence de la douleur restait à 67%.

Discussion/perspectives/conclusion

La prévalence de la douleur est élevée chez les greffés pulmonaires, justifiant une prise en charge spécifique. Les techniques non médicamenteuses semblent particulièrement adaptées. Ainsi, nous souhaitons améliorer la préparation des patients par la mise en place de programmes pré greffe d'apprentissage des TENS et de l'auto-hypnose.

Contact : m.michel-cherqui@hopital-foch.org

Évaluation *ex vivo* après le reconditionnement d'un poumon gauche sur cœur arrêté prélevé sur un modèle porcine

Auteur
Mussot S.

Affiliation

Centre Chirurgical Marie Lannelongue,
Le Plessis Robinson

Objectifs

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer sur un modèle porcine (qui est l'animal dont la physiologie se rapproche le plus de l'être humain) de greffe monopulmonaire gauche la qualité d'un greffon pulmonaire obtenu à partir d'un donneur à cœur non-battant après reconditionnement *ex vivo* c'est-à-dire que le poumon prélevé sur un sujet décédé au sens le plus commun du terme est prélevé et branché sur un « cœur artificiel » ce qui permet d'en évaluer la fonction et les qualités.

Le prélèvement de poumon sur un donneur à cœur arrêté n'est actuellement pas une procédure reconnue en France.

Le but de ce travail est de démontrer que cette technique est valide chez le porc puis de l'appliquer rapidement à l'homme (ce qui est fait dans plusieurs pays européens dont l'Espagne)

Bénéfices attendus pour le patient atteint de mucoviscidose

Les bénéfices sont rapidement concrétisables une fois la technique transposée à la transplantation humaine mono et bi-pulmonaire. Avec 3 impacts majeurs :

► la fin de la pénurie de greffons pulmonaires car la source des greffons qui est actuellement le donneur en état de mort cérébral (c'est-à-dire une rareté) deviendra l'ensemble des sujets décédés d'arrêt cardiaque ce qui est énorme

- faciliter la gestion des receveurs avec anticorps anti-HLA (possibilités de cross-match vrai préimplantatoires) qui sont actuellement en impasse thérapeutique lorsque les anticorps sont nombreux et à des taux élevés.
- l'augmentation de la disponibilité des greffons permettrait de diminuer les incompatibilités HLA donneur-receveur et donc par voie de conséquence d'influer sur le rejet chronique, ceci pourrait de plus permettre de diminuer les doses et le nombre des immunosuppresseurs utilisés actuellement et dont les effets secondaires ne sont pas négligeables.

Contact : sacha.mussotmd@gmail.com



La métabolomique par la spectroscopie RMN HRMAS dans le cadre de l'évaluation de la qualité du greffon pour la transplantation pulmonaire

Auteurs

Benahmed M. A.^{1,2}, Santelmo N.³, Elbayed K.⁴, Frossard N.⁵, Olland A.³, Diemunsch P.⁶, Piotto M.⁷, Massard G.³, Namer I. J.⁸

Affiliations

1. Université de Strasbourg, CNRS UMR7237, Laboratoire d'Imagerie et de Neurosciences Cognitives (LINC), Institut de Physique Biologique, Strasbourg Cedex, France
2. Université de Strasbourg, CNRS UMR7177, Laboratoire de RMN et Biophysique des Membranes, Institut de Chimie, Strasbourg, France
3. Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Service de Chirurgie Thoracique, Nouvel, Hôpital Civil, 1, place de l'Hôpital, 67091 Strasbourg, France
4. Université de Strasbourg, CNRS UMR 7357, ICube, FMTS – Faculté de Médecine, 4, rue Kirschleger, 67085 Strasbourg Cedex, France
5. Université de Strasbourg, CNRS UMR 7200, Laboratoire d'Innovation Thérapeutique, Faculté de Pharmacie, 74, route du Rhin, 67401 Illkirch, France
6. Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Service d'Anesthésiologie, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg Cedex, France
7. Bruker Biospin, Wissembourg, France
8. Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Service de Biophysique et Médecine Nucléaire, Hôpital de Hautepierre, 1, avenue Molière, 67098 Strasbourg Cedex 09, France

Contexte

La transplantation pulmonaire est une alternative thérapeutique ultime dans de nombreuses maladies pulmonaires sévères, en particulier chez des patients atteints de mucoviscidose (Cystic Fibrosis), de fibrose pulmonaire idiopathique (IPF idiopathic pulmonary fibrosis), de lymphangioléiomyomatose (LAM) ou d'hypertension pulmonaire. Cependant, les besoins en greffe dépassent largement le nombre de transplantations pratiquées en France. Les causes de ce déséquilibre incluent un trop faible nombre de donneurs potentiels en raison des critères actuels pour l'acceptation du greffon qui sont restreints car les biomarqueurs biologiques de qualité et de viabilité du greffon n'ont pas été décrits à ce jour. L'une des possibilités d'augmenter le nombre de donneurs, est de mettre en évidence des biomarqueurs de la qualité du greffon et d'étendre les critères d'acceptabilité du greffon en permettant les prélèvements à partir de donneurs à cœur arrêté est une possibilité. Les prélèvements pulmonaires après arrêt cardiaque sont effectués, en clinique expérimentale chez l'homme, en Espagne depuis trois ans. Il existe dans ce pays une législation très favorable et surtout une conscience collective qui rend le don d'organes extrêmement facilité. Il est donc essentiel d'optimiser l'utilisation de cette ressource. Pour cela, la mise en place de critères de validation de la qualité du greffon est une donnée clé pour palier à ce manque de transplantation pulmonaire. Nous proposons ici l'utilisation de la métabolomique par spectroscopie en Résonance Magnétique Nucléaire à haute résolution par rotation à angle magique (RMN HRMAS) pour mettre en évidence des biomarqueurs de la qualité du greffon.

Objectif

- Étudier la faisabilité d'utiliser la métabolomique par la RMN HRMAS pour évaluer la qualité du greffon pulmonaire.
- Mettre en évidence de potentiels biomarqueurs de la qualité du greffon pulmonaire.
- Évaluer une éventuelle introduction de cette technique en pratique courante dans un environnement hospitalier.

Méthodes

Pour évaluer la qualité du greffon, un modèle animal de porc Large White (n=6) a été employé pour la transplantation pulmonaire après préservation en *in situ* chez le donneur à cœur arrêté. Une perfusion de la solution de Perfadex® refroidi à 4°C a été instaurée 30 minutes après arrêt cardiaque, nous avons évalué l'efficacité de ce modèle dans la préservation pulmonaire à thorax ouvert par sternotomie. Après chaque temps d'ischémie froide i.e. 3h, 6h et 8h, la perfusion au Perfadex® est arrêtée et est remplacée par une perfusion d'un mélange de solution de Steen® et de culot globulaire du même porc, afin d'explorer l'état des échanges gazeux grâce à un circuit de perfusion inversée à l'aide d'une ECMO (Extra Corporel Membrane Oxygenator). Les prélèvements pulmonaires ainsi que les LBA ont été pratiqués après chaque temps d'ischémie froide pour les analyses métabolomiques et biochimiques. Puis, nous avons comparé l'effet de la perfusion de deux solutions de conservation (Perfadex® et Scot15®) sur la qualité du greffon pulmonaire chez le porc Large White avant et après transplantation (n=24).

Résultats

Par la métabolomique RMN HRMAS nous avons pu identifier 35 métabolites dans le poumon de porc et nous en avons quantifié 24, dont des métabolites ayant une action protectrice au niveau tissulaire et présent après 8h de perfusion froide (e.g. glutathion) et d'autres, étant des biomarqueurs du stress oxydatif, absents au même temps de l'expérience (e.g. uracile). Par ailleurs, la métabolomique a permis de démontrer que malgré une dégradation partielle du tissu après 22h d'ischémie froide pour le groupe

perfusé au Scot15® comparé au groupe Perfadex®, le métabolome retrouvait un état normal analogue à un tissu contrôle après la restauration de perfusion chez le receveur. La métabolomique est donc un outil qui nous a permis de comprendre ce qui se passe au niveau métabolique après transplantation.

Discussion/perspectives/ conclusion

Nous considérons à partir des résultats métabolomiques qui sont en accord avec les analyses fonctionnelles et

biochimiques, que la métabolomique par la RMN HRMAS peut être efficacement appliquée pour l'évaluation de la qualité du greffon comme technique originale et rapide (en 20 minutes) et qui peut être implantée dans un environnement médical avec un coût d'investissement relativement faible.



Vécu de la greffe-représentations psychiques du greffon et du donneur chez des personnes transplantées pulmonaires

Auteurs

Farcy-Pauthe R.¹⁻², Cupa D.², Riazuelo H.², Devillier P.³, Chereau B.⁴

Affiliations

1. Service de Pneumologie, Hôpital Foch, Suresnes (92)
2. EA 4430-CLIPSY- Université Paris Ouest-Nanterre-La Défense (92)
3. DRCI, Hôpital Foch, Suresnes (92)
4. Institut de Psychologie, Université Paris-Descartes, Boulogne-Billancourt (92)

Il y a quelques années, suite à plusieurs témoignages (au sein de notre service) de personnes greffées ayant connaissance d'informations relatives à «leur» donneur, nous nous étions interrogés sur la façon dont les receveurs et les soignants qui les prennent en charge, gèrent la question de l'anonymat du donneur.

Aujourd'hui, nous nous proposons de travailler plus spécifiquement sur les représentations psychiques du donneur et du greffon chez des patients transplantés pulmonaires, selon différentes modalités.

Les objectifs de cette recherches sont de mieux saisir le vécu psychique de l'événement greffe, mais aussi de mieux comprendre les représentations psychiques du greffon et du donneur selon :

- ▶ la nature et le vécu de la maladie (de l'enfance ou apparue tardivement)
- ▶ le vécu de la greffe
- ▶ la personnalité du sujet
- ▶ que le sujet greffé a ou pas des informations concernant le donneur.

Et ceci, afin de mieux appréhender et prévenir les remaniements psychiques ainsi que les questionnements à l'œuvre dans la transplantation pulmonaire.

La méthode que nous proposons est innovante car elle allie une recherche quantitative à une recherche qualitative. Ainsi, 62 personnes majeures, souffrant de pathologies pulmonaires diverses et greffées depuis plus de 6 mois, ont été recrutées. La recherche se déroule en deux temps bien distincts, toujours lors d'une visite du sujet à l'hôpital.

Dans un premier temps, nous proposons un entretien semi directif d'une heure environ, ainsi qu'une passation des auto questionnaires : HADS, CES-d (afin de cerner les aspects anxio-dépressifs au

moment de la passation) et de l'échelle de personnalité Big Five Inventory.

L'entretien semi directif est analysé en fonction d'une grille de représentations comportant divers items :

- ▶ les relations (/proches, poumons natifs, greffons, donneur, équipe médicale)
- ▶ les identifications (donneur, famille du donneur, autre)
- ▶ les affects (/greffe, donneur, greffons, équipe...)
- ▶ les sensations (corporelles, psychiques, effets des traitements)
- ▶ la représentation du corps (avant/ après greffe)
- ▶ le vécu de la maladie et de la greffe
- ▶ les deuils

Dans un second temps, nous effectuons les passations des tests projectifs Rorschach et TAT.

Ceux-ci nous permettent de mettre en lumière divers éléments comme :

- ▶ le type d'angoisse
- ▶ la construction de l'image de soi
- ▶ la relation à l'autre...

59 entretiens ont d'ores et déjà été menés, et 43 tests effectués.

Les analyses des résultats démarreront après le recueil de tout le matériel.

Contact : rfarcy1@free.fr

Évaluation prospective des complications neurologiques secondaires à l'acte chirurgical de la transplantation pulmonaire

Auteur

Périn-Dureau FL.

Affiliation

Hôpital Foch

Pour un patient atteint de mucoviscidose en insuffisance respiratoire terminale, la seule option curatrice est la Transplantation Pulmonaire (TP) initiée en 1983 (1988 à Foch).

D'abord grevée d'une forte morbidité, la TP est maintenant à maturité grâce à de multiples progrès : techniques chirurgicale et d'anesthésie-réanimation, dépistage et traitement précoces du rejet, des infections, etc.

Initialement centrée sur la survie post-opératoire immédiate, sur la ventilation à moyen terme, l'ambition de la TP est maintenant d'offrir au patient une vie non seulement plus longue mais aussi de meilleure qualité, dans tous les aspects du quotidien.

Or des études préliminaires, rétrospectives, montrent que 30% des transplantés souffrent de troubles cognitifs et du comportement, masqués mais parfois très invalidants, et que 5% font

un accident vasculaire cérébral péri-opératoire grave (handicap voire décès). Nous proposons la première étude prospective et systématique de ces lésions neurologiques.

L'objectif principal est d'évaluer la fréquence et la nature des Dysfonctions Cognitives Post-TP (DCPT), qui sont à la fois méconnues, sous-estimées, et néanmoins dans les formes les plus sévères à l'origine d'une dégradation notable de la qualité de vie des patients. Les DCPT seront étudiés par une batterie de tests effectués d'abord avant, puis 3 mois après, la TP, par un neuropsychologue spécialisé.

Les objectifs secondaires sont de préciser :

- ▶ la fréquence et la nature des Accidents Vasculaires Cérébraux cliniquement Patents (AVCP) après TP ;
- ▶ la fréquence et l'importance des embolies gazeuses per-opératoires, en grande partie responsables des DCPT et des AVCP.

Ces embolies seront étudiées :

- lorsqu'elles surviennent pendant la TP, par échographie cardiaque ;
- radiologiquement, par IRM cérébrale détectant des lésions nouvelles secondaires à la TP.

Perspectives dans le cadre de la mucoviscidose

Mesurer les troubles neurologiques et cognitifs directement secondaires aux embolies gazeuses per-opératoire est une étape nécessaire à l'établissement de stratégies ultérieures visant à les réduire :

- ▶ amélioration des procédures chirurgicales et anesthésiques afin de diminuer la fréquence de ces embolies ;
- ▶ dépistage en post-TP immédiat de lésions neurologiques évolutives graves qui justifieraient alors de thérapies spécifiques mais lourdes, oxygénothérapie hyperbare en caisson ou autre ;
- ▶ proposer à distance de la TP une rééducation neurocognitive ciblée et adaptée aux troubles installés, comme ce qui est pratiqué dans d'autres causes de lésion neurologique (AVC «classique», traumatisme crânien...), afin de les réduire.

La perspective globale est d'améliorer la qualité de vie des patients souffrant de mucoviscidose et ayant bénéficié d'une TP : favoriser leur réinsertion familiale, sociale, professionnelle, et leur retour à une vie quotidienne la plus normale possible.

Contact : Florent.PERIN-DUREAU@ansm.sante.fr



Valeurs prédictives des marqueurs physiques et biochimiques de l'œdème de reperfusion après transplantation pulmonaire

Auteurs

Pottecher J.¹, Roche A.-C.², Dégot T.³, Helms O.², Levy F.², Hentz J.-G.², Schmitt J.-P.², Santelmo N.⁴, Falcoz P.-E.⁴, Geny B.⁵, Kessler R.³, Massard G.⁴, Steib A.² pour le Groupe de transplantation pulmonaire de Strasbourg

Affiliations

Hôpitaux Universitaires de Strasbourg :

1. Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, Hautepierre
2. Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, Nouvel hôpital civil
3. Service de pneumologie, Nouvel hôpital civil
4. Service de chirurgie thoracique, Nouvel hôpital civil
5. Service des Explorations Fonctionnelles, Nouvel hôpital civil

Contexte

La dysfonction primaire du greffon (DPG) est un œdème pulmonaire lésionnel qui touche 30% des transplantés pulmonaires (TP) [1] et reste grevé d'une lourde morbidité. Sa physiopathologie ferait intervenir une lésion endothéliale (hyperperméabilité alvéolo-capillaire) et une dysfonction pneumocytaire (baisse de la clairance alvéolaire de l'œdème.)

Objectif

Les objectifs de cette étude étaient de déterminer les mécanismes lésionnels et les facteurs prédictifs physiques et biochimiques précoces de la DPG.

Méthodes

Après accord du CPP et consentement éclairé, les patients candidats à une TP au CHU de Strasbourg étaient inclus (PRI 4714, NCT0115826). Un monitoring par thermodilution transpulmonaire (Pulsion PiCCO2®) était mis en place dès l'induction anesthésique. Les valeurs d'eau pulmonaire extra-vasculaire (EPEi) et de perméabilité vasculaire pulmonaire (PVPi) étaient mesurées à H0 (déclampage du 2^e poumon), H6, H12, H24, H48, H72 et permettaient le calcul de la clairance alvéolaire de l'œdème. Aux mêmes temps étaient prélevés 4mL de plasma pour dosage de sICAM (biomarqueur endothélial) et sRAGE (biomarqueur pneumocytaire). Le grade de DPG de 0 à 3 (forme la plus grave) était défini selon les recommandations de l'ISHLT [2] et l'analyse statistique réalisée par corrélation de Spearman, ANOVA et régression logistique.

Résultats

Sur les 55 patients inclus, 47 (52±14 ans) ont été greffés dont 43 survivants à un an. Les grades maximaux de DPG étaient respectivement de 0, 1, 2 ou 3 chez 9%, 36%, 36% et 19% des patients. Le grade de DPG était significativement corrélé aux durées de ventilation mécanique (p<0,05)

et de séjour en réanimation (p<0,01). Après TP, PVPi et sRAGE diminuaient de façon significative sans pouvoir différencier les patients DPG 0-2 des patients DPG 3. sICAM ne variait pas de façon significative et ne distinguait pas les patients DPG 0-2 des patients DPG 3. La clairance alvéolaire de l'œdème était positive chez les patients DPG 0-2 et négative chez les patients DPG 3 (p<0,05). En analyse multivariée, étaient associés de façon indépendante à la survenue d'une DPG 3 l'EPEi à H0 (AUC : 0,74 ; Se : 67% ; Spé : 83%), l'EPEi à H6 et le PVPi à H6 (Cf tableau).

Discussion/perspectives/conclusion

Le biomarqueur de dysfonction pneumocytaire (sRAGE) augmente immédiatement après TP puis diminue sans être prédictif d'une DPG 3. Le biomarqueur de lésion endothéliale (sICAM) n'est pas discriminant. Le marqueur physique d'inondation alvéolaire (EPEi) mesuré dès le déclampage de l'artère pulmonaire est prédictif de la survenue d'une DPG 3.

Références

- [1] Eur J Cardiothorac Surg 2012 ; 41 :686-690
- [2] J Heart Lung Transplant 2005 ;24(10) :1454-1459.

Variable	Odd ratio	IC95%	p
EPEi H0	1.37	[1.08-1.73]	0.01
EPEi H6	1.19	[1.02-1.38]	0.028
PVPi H6	1.83	[1.01-3.29]	0.045

Contact : julien.pottecher@chru-strasbourg.fr

Impact de l'immunisation humorale sur le pronostic vital et fonctionnel respiratoire après transplantation pulmonaire ; rôle des allèles et des haplotypes HLA-G du receveur

Auteurs

Picard Ch.^(1,2), Di Cristofaro J.⁽²⁾, Loundou A.⁽³⁾, Basire A.^(1,2), Frassati C.^(1,2), Papa K.⁽¹⁾, Thomas P.⁽⁴⁾, Gomez C.⁽⁵⁾, **Reynaud-Gaubert M.⁽⁵⁾**

Affiliations

1. Laboratoire HLA, EFS-Alpes Méditerranée, 149, Bd Baille 13005 Marseille
2. UMR 7268, Faculté Nord, 13015 Marseille
3. Unité d'Aide Méthodologique à la recherche clinique, DRRC/AP-HM, Laboratoire de Santé Publique, Aix Marseille Université
4. Service de Chirurgie Thoracique, Equipe de Transplantation Pulmonaire CHU Nord, 13015 Marseille ; URMITE - CNRS-UMR 6236, Aix Marseille Université
5. Service de Pneumologie, Equipe de Transplantation Pulmonaire CHU Nord, 13015 Marseille; URMITE - CNRS-UMR 6236 Aix Marseille Université

Contexte

La transplantation pulmonaire (TP) constitue une option thérapeutique reconnue pour des patients sélectionnés parvenus au stade terminal d'une insuffisance respiratoire chronique en dépit d'un traitement médical optimal. La survie à moyen et long terme reste entravée par des événements alloimmuns, parmi lesquels jouent un rôle prépondérant les épisodes de rejet aigu cellulaire et plus récemment reconnu, le rejet humoral, avec la synthèse supposée délétère d'anticorps dirigés contre les spécificités HLA du donneur (donor specific antibodies, DSA-HLA), qu'ils soient préexistants (AC préformés) ou qu'ils soient apparus après la greffe (AC de novo). Le rejet médié par les DSA-HLA (AMR) pourrait participer à l'évolution vers un rejet chronique, désormais

défini comme une dysfonction chronique du greffon (chronic lung allograft dysfunction, CLAD). De surcroît, des données très récentes suggèrent que l'expression de la molécule HLA-G, et en particulier de certains allèles HLA-G du donneur et/ou du receveur serait corrélée à un meilleur pronostic fonctionnel de l'allogreffe en transplantation cardiaque, hépatique et rénale; de façon superposable, il a été décrit que l'expression de HLA-G par l'épithélium bronchique du greffon était associée à une meilleure survie, faisant d'HLA-G un marqueur potentiel de tolérance en TP. Récemment, plusieurs études ont montré que l'expression d'HLA-G sous forme soluble était régulée par des polymorphismes situés dans des régions régulatrices et des régions codantes du gène dont on peut définir des haplotypes (UTR) par association et qu'elle est induit des phénomènes de tolérance immunitaire. Ainsi, notre hypothèse était que la molécule HLA-G du receveur influencerait sur les processus d'allo-immunisation.

Objectifs

Les principaux objectifs de cette étude étaient de déterminer l'impact sur la survie globale et sur la fonctionnalité du greffon (avec et sans CLAD) de : 1/ la sensibilisation HLA pré et post-greffe (AC anti HLA classe I et II détectés en Luminex®) ; 2/ de l'expression de HLA-G soluble et de sa régulation (allèles et haplotypes HLA-G).

Méthodes

Il s'agit d'une étude rétrospective monocentrique portant sur 138 patients adultes (72 femmes, 66 hommes) ayant eu consécutivement une TP (26 TP unilatérale, TP ; 112 TP bilatérales) et un suivi minimal de 2 ans par l'équipe de Transplantation Pulmonaire de Marseille entre 12/1997 et 12/2010 pour une

mucoviscidose, CF (43%), un emphyseme (25%), une fibrose (20%) ou pour une autre indication (12%). L'âge moyen à la greffe était de 39.3 ± 13.3 ans, et le suivi moyen post-TP était de 37.2 mois (IC 25-75 %, 10.8 - 63,2 mois). Les prélèvements sanguins étaient réalisés dans les délais de suivi de routine de l'équipe, soit en préopératoire immédiat (J0) et à J15, M3, M12 et M24 ; une partie des sérums était congelée à -80°C. La détection et l'identification des AC anti-HLA de classe I et de classe II étaient réalisées par un test en phase solide ultra-sensible (Luminex®) en utilisant le kit Gen Probe®. La mesure de HLA-G soluble était réalisée en duplicata sur des sérums issus de prélèvements à J0 et à M12 en utilisant un test Elisa (BioVendor®). Le receveur et le donneur étaient genotypés pour les loci HLA-A,-B,-DR et-DQ par LABType SSO (One Lambda, Inc, USA) et analysés par le logiciel HLA Fusion v1.2.1 (One Lambda, Inc, USA) pour l'identification des allèles. L'appariement sur 0, 1 ou 2 allèles était identifié pour chaque locus HLA. La détection de 16 polymorphismes d'intérêt dans 5'UTR, régions codantes et 3'UTR de HLA-G a été réalisée par la technique de Snapshot. Les données HLA-G ont été analysées à l'aide GeneMapper 4.0. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS 15.5. La comparaison des variables a été réalisée le test exact de Fisher ou α^2 . Pour l'analyse des événements temps dépendant, les données ont été analysées par la méthode Kaplan-Meier (analyse univariée) et par un modèle de Cox (analyse multivariée).

Résultats

La survie globale de la cohorte était de 76% et 72% à 1 an et 2 ans respectivement. En analyse univariée, le diagnostic de mucoviscidose (CF) (versus les



autres indications, $p < 0,001$), le jeune âge du receveur ($p = 0,001$), et l'absence de compatibilité donneur/receveur dans le locus B ($p = 0,03$) étaient associées à un meilleur pronostic en termes de survie et de fonctionnalité de l'allogreffe. Vingt-neuf transplantés ont développé un CLAD durant l'étude avec des risques significativement majorés en l'absence de compatibilité donneur/receveur dans les loci DR et DQ, dans le cas de TP unilatérale et dans toutes les indications de greffe hors CF. Des AC anti-HLA préformés ont été détectés chez 32 receveurs (24%), dont 16 (50%) étaient des DSA. Les AC anti-HLA préformés, qu'ils soient des DSA ou non, n'influençaient pas la survie ou l'incidence de CLAD ($p > 0,05$). Des AC anti-HLA apparus de novo ont été détectés dans 52 receveurs (38%) dont 39/52 (75%) étaient des DSA. Les DSA détectés à M3 et M12 étaient principalement dirigés contre les Ag HLA de classe II du donneur (6 classe I, 18 classe II et 3 de classe I et II conjointement). L'apparition de DSA de novo de classe II était associée à une survie globale inférieure ($p < 0,001$), mais n'influençait pas significativement la fonctionnalité du greffon (CLAD) ($p = 0,65$), alors que les DSA de classe I influençaient de la survie globale ($p = 0,03$) et le devenir fonctionnel ($p = 0,008$). La distribution des fréquences des allèles de

HLA-G chez nos transplantés était similaire à celle de la population contrôle, à l'exception de l'allèle HLA-G*01:06 (10% vs 1%, $p < 0,001$). Il a été noté une forte prévalence de l'allèle HLA-G*01:06 dans la population CF, alors que les autres pathologies affichaient la même prévalence que la population témoin pour cet allèle. Un total de 8 haplotypes UTR a été obtenu, le plus courant étant celui qui portait les allèles -725C/-716G/-201A/-56C/3142G/3187A/3196G/Ins14 (UTR2) avec une fréquence de 34%; 26% des haplotypes UTR2 était porté par l'allèle codant HLA-G*01:06. Seul l'haplotype UTR3 était associé une survie globale moindre ($p = 0,001$), une prévalence de CLAD supérieure ($p = 0,03$) et la production de novo de DSA ($p = 0,012$). Pour les receveurs porteurs de l'haplotype UTR3, l'expression de HLA-G soluble était plus basse à J0 et plus élevée à M12 comparée à celle de porteurs d'autres UTR ($p = 0,15$). En analyse multivariée, le pronostic était meilleur chez les receveurs atteints de CF ($p = 0,026$) et chez ceux n'ayant pas développé de DSA classe II ($p = 0,047$). Le risque relatif (RR) de CLAD était majoré dans la population non-CF ($p = 0,001$) et dans celle portant l'haplotype UTR3 ($P = 0,001$). Ce RR atteignait 36 en cas de diagnostic d'emphysème comparé à la CF (IC 95%, 3,1-507) et 54 chez les porteurs d'UTR3 comparés aux non porteurs (IC95%, 4,7-608).

Discussion/Conclusion

Cette étude confirme que, quelle que soit la pathologie initiale, le développement post-greffe de DSA de novo, en particulier ceux dirigés contre les antigènes de classe II, est associé à une survie moindre mais ne semble pas influencer le devenir fonctionnel du greffon, ce qui suggère que l'immunisation humorale n'est probablement pas le principal facteur de CLAD. En revanche, le pronostic vital et fonctionnel ne serait pas influencée par l'existence d'une alloimmunisation pré-greffe (DSA préformés), et ce, sans que l'on puisse identifier de différence notable dans la modulation de l'immunosuppression par rapport aux études rapportées. Par ailleurs, il est apparu que certains allèles HLA-G pourraient être associés au diagnostic de mucoviscidose et que l'haplotype UTR3 serait ainsi un facteur de risque d'allo-immunisation et de rejet chronique chez les receveurs. Le mécanisme physiopathologique qui prévaudrait à l'impact négatif d'UTR3 reste néanmoins à clarifier. Ces différents résultats nécessitent d'être supportés et confirmés par des études plus larges prospectives multicentriques.

Contact : MartineLouise.REYNAUD@ap-hm.fr

Expérience française de transplantation pulmonaire après réhabilitation *ex vivo* de greffons initialement rejetés

Auteurs

Sage E.¹, Mussot S.², Trebbia G.¹, Puyo P.¹, Bonnette P.¹, Picard C.¹, De Miranda S.¹, Grenet D.¹, Fischler M.¹, Stern M.¹, Chapelier A.¹

Affiliations

1. Hôpital Foch
2. Hôpital Marie Lannelongue

Contexte

Seulement 15% des poumons de donneurs décédés de mort cérébrale sont prélevés en vue de transplantation pulmonaire (TP). La technique de perfusion pulmonaire *ex vivo* permet d'optimiser la fonction pulmonaire des greffons à haut risque.

Objectif

Nous rapportons l'expérience clinique française de TP utilisant des greffons initialement rejetés et réhabilités en *ex vivo*.

Méthodes

D'avril 2011 à avril 2013, dans le cadre d'une étude prospective bi-centrique sous l'égide de l'Agence de Biomédecine, 32 greffons de donneurs à critères élargis, initialement rejetés par les onze équipes françaises de TP, ont été réhabilités en *ex vivo* selon la technique de Toronto. Au terme de la procédure, les poumons ayant récupéré une fonction satisfaisante ont été transplantés. Durant cette même période, 81 transplantations bi-pulmonaires (TBP) faites avec des greffons conventionnels ont été utilisées comme contrôle. Les patients transplantés en Super Urgence ont été exclus de cette étude.

Résultats

Sur les 32 greffons réhabilités, 31 ont retrouvé une fonction satisfaisante, avec une médiane du rapport de PaO₂/FiO₂ passant de 274 mmHg à 511 mmHg en fin de procédure ($p < 0.0001$). Ces greffons ont permis d'effectuer 31 TB dont 15 pour des patients atteints de mucoviscidose. L'incidence de défaillance

primaire du greffon de grade 3 à 72 heures était de 6,5% dans le groupe *ex vivo* et de 8,5% dans le groupe contrôle ($p=1$). Les durées moyennes d'intubation, de séjour en réanimation et de séjour hospitalier étaient respectivement de 1, 9 et 37 jours dans le groupe *ex vivo* et de 1, 6 et 28 jours dans le groupe contrôle ($p > 0,05$). La mortalité à 30 jours était de 3,3% dans le groupe *ex vivo* ($n=1$) et de 4,2% dans le groupe contrôle ($n=3$) ($p=1$). La survie à 1 an est de 93,3% dans le groupe *ex vivo* et de 91,5% dans le groupe contrôle.

Discussion/perspectives/conclusion

La réhabilitation *ex vivo* des greffons pulmonaires est une technique fiable et reproductible qui a permis d'augmenter de façon significative le nombre de greffons utilisables. Les TP faites avec des greffons réhabilités ont des résultats identiques à ceux obtenus avec des TP utilisant des greffons conventionnels.

Contact : e.sage@hopital-foch.org



Développement d'un suivi biologique de l'état d'immunosuppression après transplantation pulmonaire : exemple de l'activité calcineurine

Auteurs

Sanquer S., Lena C., Herry L., Barouki R.

Affiliations

INSERM UMR-S 747, Université Paris Descartes, et Service de Biochimie Métabolomique et Protéomique, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris.

Contexte

L'évolution de la transplantation pulmonaire reste largement dépendante de la survenue d'épisodes de rejet aigu d'allo-greffe, et plus à distance d'un rejet chronique responsable d'une dysfonction plus ou moins sévère du greffon. La prévention standard de ces complications est à base de médicaments immunosuppresseurs anti-calcineurines, mais l'équilibre du traitement est souvent difficile à obtenir de façon régulière et prolongée, une sous-immunosuppression pouvant se traduire par la survenue de processus de rejet, alors qu'à l'inverse, une sur-immunosuppression pourrait favoriser l'émergence d'infections et de proliférations tumorales.

Objectif

Améliorer le suivi thérapeutique des immunosuppresseurs en mesurant les activités des enzymes et protéines cibles des médicaments immunosuppresseurs. L'étude de la calcineurine, cible des immunosuppresseurs anti-calcineurine, est donnée en exemple ici.

Méthodes

Le dosage de l'activité de la calcineurine, initialement développé en chromatographie liquide couplée à une détection UV (LC-UV), a été transféré en spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS). L'intérêt de la mesure de l'activité de la calcineurine en transplantation pulmonaire a été évalué tout au long des 24 premiers mois après la transplantation. La régulation de la calcineurine après activation lymphocytaire a été étudiée.

Résultats

Le transfert du dosage de l'activité de la calcineurine en LC-MS/MS a permis de réduire la quantité d'échantillon nécessaire pour l'analyse de 25 à 1 mg, et d'accroître considérablement la spécificité du test. L'évaluation de l'activité de la calcineurine pendant 2 ans après transplantation pulmonaire a permis de déterminer une zone d'activité optimale pour la calcineurine avec deux seuils : 12 et 102 pmol/mg/min, le risque de survenue du rejet étant plus élevé lorsque l'activité de la calcineurine est au-dessus de la borne supérieure ou en-dessous de la borne inférieure, le risque de développer un cancer et/ou des infections virales étant plus élevé lorsque l'activité de la calcineurine est en-dessous de la borne inférieure. L'étude de la régulation de la calcineurine après activation lymphocytaire a permis de mettre en évidence une stimulation transitoire rapide de l'activité de la calcineurine

suivie d'une inhibition durable de l'activité enzymatique : l'activité de la calcineurine est augmentée après 2 minutes de stimulation alors qu'elle est diminuée après 24 à 48 heures de stimulation lymphocytaire.

Discussion/perspectives/conclusion

Certains de ces résultats sont inattendus et peuvent sembler paradoxaux, mais ils ont ouvert un champ nouveau dans la compréhension du rôle de la voie calcineurine/NFAT. Ces résultats suggèrent que deux mécanismes distincts peuvent induire de façon concomitante l'inhibition de l'activité de la calcineurine : l'un médié par le médicament immunosuppresseur lui-même et l'autre médié par une régulation négative endogène de la voie de signalisation calcineurine/NFAT quand cette dernière est activée. Ainsi les taux très faibles d'activité de la calcineurine que nous avons déterminés dans notre population de patients transplantés pulmonaires développant un rejet pourraient être le reflet d'une activation lymphocytaire passée suivie d'une forte activation de la régulation négative de la voie calcineurine/NFAT. En conclusion, ces résultats soulignent l'intérêt de la calcineurine pour le suivi des patients transplantés pulmonaires.

Contact : sylvia.sanquer@gmail.com

Évaluation *ex vivo* de greffons pulmonaires non acceptés pour la transplantation pulmonaire

Auteurs

Robert Y., Briot R., Pison C., Souilamas R.

Affiliations

CHU Grenoble – HEGP Paris

Projet

Évaluation *ex vivo* selon la technique de Steen des greffons pulmonaires non acceptés pour la transplantation pulmonaire ; Les objectifs de la première phase sont la re-perfusion, le reconditionnement, et l'évaluation *ex vivo* sans implantation. Il s'agit de démontrer que le greffon marginal refusé pour la greffe peut être aussi valable que le greffon normal après reconditionnement *ex vivo*. Cette première phase sera uniquement expérimentale afin de démontrer la faisabilité de cette technique. Les aspects éthiques du prélèvement sont respectés et en accord avec les autorisations demandées pour l'étude.

Cette étude devrait permettre de démontrer sa faisabilité en France en dehors de toute réimplantation chez

des receveurs. Cette première phase permettra de maîtriser un modèle d'évaluation des greffons *ex vivo* sur le plan logistique, d'étudier les facteurs liés à l'ischémie-reperfusion, et de proposer des stratégies et/ou actions de préservation optimale avant réimplantation pour élargir le nombre de greffons utilisables et donc le nombre de receveurs.

Protocole

On réalise des prélèvements pulmonaires à partir de greffons marginaux refusés pour la transplantation. Ces greffons feront l'objet d'une reperfusion extra corporelle, d'un reconditionnement et d'une évaluation pour démontrer la faisabilité de cette technique à visée thérapeutique, c'est-à-dire la transplantation pulmonaire.

Les donneurs bénéficieront d'une pneumoplogie et d'une préservation première par liquide extra-cellulaire (Perfadex®) puis d'une re perfusion *ex vivo* du greffon pulmonaire avec la solution de Steen®, avec une ventilation douce avec FIO2 à 1 et PEEP à 5 cm H2O.

Les paramètres suivant seront évalués :

- ▶ résistances vasculaires pulmonaires,

- ▶ compliance pulmonaire,
- ▶ pressions partielles en O₂ et CO₂,
- ▶ Évaluation tomodynamométrique *ex vivo*

Résultats

Treize paires de poumons refusés par toutes les équipes ont été prélevés, reconditionnés et évalués selon la technique de Steen, puis Steen Toronto. Une seule paire de poumon a été évalué *ex vivo* dans l'organ care system.

Trois paires de poumons ont rempli les critères compatibles avec une éventuelle implantation.. Les détails des évaluations *ex vivo* seront présentés sur le poster, sous formes de tableaux.

Conclusion

Ces résultats sont dus au fait que les poumons proposés pour cette étude, étaient des poumons exclus de tout projet d'implantation en raison de leur très mauvaise qualité fonctionnelle. Les études publiées dans la littérature ont été souvent faites sur des poumons dits « limites » et non pas exclus de tout projet d'implantation comme ceux (en dehors d'une seule paire) que nous avons inclus dans notre étude.



Recherche de marqueurs pour le diagnostic du rejet humoral en transplantation pulmonaire

Auteurs

Stern M.¹, Reynaud-Gaubert M.², Brugière O.³, Pison Ch.⁴, Picard Cl.¹, Desmazes-Dufeu N.², Colombat M.⁵

Affiliations

1. Groupe de Transplantation pulmonaire, Hôpital Foch, Suresnes, France
2. Groupe de Transplantation Pulmonaire, Hôpital Nord, Marseille, France
3. Groupe de Transplantation Pulmonaire, Hôpital Bichat, Paris, France
4. Groupe de Transplantation Pulmonaire, Grenoble, France
5. Service d'Anatomo-Pathologie, Hôpital Foch, Suresnes, France

Objectifs

Déterminer l'incidence et l'intérêt diagnostique des marqueurs classiques (développés en transplantation rénale) associés au rejet humoral d'allogreffe

chez 100 transplantés pulmonaires de novo :

- ▶ Anticorps anti HLA anti-donneur spécifique,
 - ▶ Dépôts endothéliaux de C4d,
 - ▶ Capillarite à neutrophiles,
 - ▶ Altérations fonctionnelles respiratoires.
- Identifier le rejet humoral précoce au sein de l'entité de la défaillance primaire du greffon pulmonaire pour proposer des thérapeutiques adaptées au conflit immunologique.

Faire la part de la réponse immune humorale dans les rejets aigus pulmonaires.

Méthodologie

Étude multicentrique, prospective, longitudinale, observationnelle d'une cohorte de 100 patients transplantés pulmonaires suivis pendant un an post-greffe. Des prélèvements séquentiels sanguins et pulmonaires (biopsies transbronchiques) seront réalisés systématiquement et à la demande (lors de suspicion de rejet ou lors de rejet confirmé).

Analyse anatomo-pathologique des marqueurs d'intérêt.

EFR réalisées concomitamment aux prélèvements sanguins et pulmonaires.

Résultats

111 patients ayant bénéficié d'une transplantation pulmonaire ont été inclus dans l'étude sur les 4 centres participants : Grenoble (8 inclusions), Paris-Bichat (5 inclusions), Marseille (41 inclusions), Foch (57 inclusions).

Les résultats sont en cours d'analyse.

Bénéfices attendus pour le patient atteint de mucoviscidose

La compréhension de la réponse immune humorale et de son rôle dans les altérations fonctionnelles après transplantation pulmonaire permettra de mettre en place précocement une réponse thérapeutique graduée et spécifique qui pourrait améliorer les résultats de la transplantation pulmonaire.

Contact : m.stern@hopital-foch.org

Bénéfice de la transplantation pulmonaire sur la survie des patients atteints de mucoviscidose

Auteurs

Thabut G.^{1,2}, Christie J. D.³, Mal H.^{1,2}, Fournier M.¹, Brugière O.^{1,2}, Leseche G.⁴, Castier Y.^{2,4} et Rizopoulos D.⁵

Affiliations

1. Service de Pneumologie B et Transplantation Pulmonaire, Université Paris 7 Denis Diderot, Hôpital Bichat, Paris, France;
2. INSERM U700 Université Paris 7 Denis Diderot, Paris, France;
3. IDivision of Pulmonary and Critical Care Medicine, Department of Medicine, Center for Clinical Epidemiology and Biostatistics, University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania;
4. IService de Chirurgie Thoracique et Vasculaire, Université Paris 7 Denis Diderot, Hôpital Bichat, Paris, France;
5. IDepartment of Biostatistics, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, The Netherlands

Contexte

Le bénéfice de la transplantation pulmonaire sur la survie des patients atteints de mucoviscidose est débattu, tant chez l'adulte que chez l'enfant. Les études publiées ont été réalisées à partir de transplantations effectuées il y a plus de 10 ans et en utilisant des méthodes statistiques inappropriées. Les conclusions de ces études ont abouti au déremboursement de cette intervention dans certains états aux États-Unis.

Objectif

Démontrer le bénéfice de la transplantation pulmonaire sur la survie de patients adultes souffrant de mucoviscidose, transplantés aux États-Unis après 2005.

Méthodes

Nous avons étudié la survie des patients inscrits sur une liste de transplantation pulmonaire aux États-Unis entre 2005 et 2009. Nous avons utilisé des modèles de survie prenant en compte l'évolution de la sévérité des patients sur liste pour déterminer le bénéfice de la transplantation pulmonaire chez ces patients (modèles joints).

Résultats

704 patients ont été inscrits sur liste pendant la durée de l'étude dont 473 ont finalement été transplantés au terme de l'étude. La survie post-greffe était de 96,5% à 3 mois, 88,4% à 1 an et 67% à 3 ans. La transplantation pulmonaire entraînait une réduction de 69% du risque de décès [95% IC : 51% – 80%]. Tous les patients ayant un score LAS > 30 (98% des patients) lors de la transplantation pulmonaire avaient un bénéfice de survie.

Discussion/perspectives/conclusion

Cette étude suggère que la transplantation pulmonaire entraîne une amélioration de la survie des patients adultes atteints de mucoviscidose et inscrits sur une liste de transplantation aux États-Unis.

Contact : gthabut@gmail.com



Modélisation de l'activité de transplantation pulmonaire par simulations informatiques

Auteurs

Thabut G.¹, Boëlle P.-Y.²

Affiliations

1. Service de Pneumologie B et transplantation pulmonaire
2. INSERM U738 et Département d'Epidémiologie, Sciences de l'Information et Modélisation et INSERM U707.

Contexte

Différents systèmes d'allocation des greffons pulmonaires sont utilisés dans le monde : certains basés sur le bénéfice attendu de la transplantation (LAS aux États-Unis), d'autres sur la gravité des patients (super-urgence en Europe par exemple). Les implications de ces différents systèmes d'allocation sur la mortalité et le temps d'attente sur liste, et la survie post-opératoire sont mal connues.

Objectif

Développer un outil informatique capable de reproduire le fonctionnement d'une liste de transplantation

pulmonaire. Cet outil sera utilisé pour comparer l'impact de différentes stratégies d'attribution des greffons sur les critères suivants : 1) mortalité sur liste, 2) temps d'attente sur liste et 3) survie post-opératoire.

Méthodes

Le fonctionnement d'une liste de transplantation est recréé à partir de simulations informatiques. Les données utilisées pour développer et 'nourrir' les simulations sont celles du registre international de transplantation pulmonaire (ISHLT) et de l'agence de la biomédecine (ABM). L'application informatique permet 1) de simuler le processus de greffe à partir de données observées; 2) de calculer les conséquences d'une règle de gestion en termes de caractéristiques pertinentes pour le patient et le système de soins (survie, efficacité...). La réalisation effective des simulations est réalisée sur la plate-forme de simulation NetLogo (www.netlogo.net). Le choix de cet environnement autorise la distribution du produit fini sous une forme conviviale et utilisable par des praticiens non spécialistes de simulation. Une application internet utilisable

à des fins d'information des patients et du public, ainsi que pour la formation des professionnels est en cours de développement.

Résultats

Les simulations informatiques réalisées reproduisent le fonctionnement d'une liste de greffe tel qu'il est observé aux États-Unis et en France (étape 1). Les données de mortalité sur liste et post greffe obtenues à partir des simulations numériques sont cohérentes avec les données observées. Les simulations visant à comparer l'impact des différentes stratégies d'attribution des greffons sont en cours de réalisation.

Discussion/perspectives/conclusion

Les simulations informatiques sont des outils puissants dont la pertinence a été démontrée dans d'autres domaines. L'emploi de ces outils en transplantation pulmonaire devrait permettre une meilleure connaissance des conséquences de l'emploi des différents systèmes d'allocation d'organes utilisés.

.....
Contact : gthabut@gmail.com
.....

La tolérance à la transplantation est associée à une expression réduite de la cystathionine- Γ -lyase qui contrôle la production d'interleukine-12 par les cellules dendritiques et les réponses immunes de type TH-1

Auteurs

Vuillefroy de Silly R.^{1,2}, Coulon F.^{1,2}, Poirier N.^{1,2}, Jovanovic V.¹, Brouard S.¹, Ferchaud-Roucher V.^{2,3}, Blancho G.^{1,2}, **Vanhove B.**^{1,2}

Affiliations

1. INSERM, UMR-S 1064, ITUN, Nantes, France.
2. Université de Nantes, CHU de Nantes, Nantes, France.
3. INSERM, UMR915, Nantes, France.

Contexte

Les lymphocytes T actifs par un antigène développent une réponse immune ou tolérogénique, en partie en fonction du statut d'activation des cellules présentatrices d'antigène (CPA). Cependant, les facteurs contrôlant l'activation des CPA ne sont pas totalement compris.

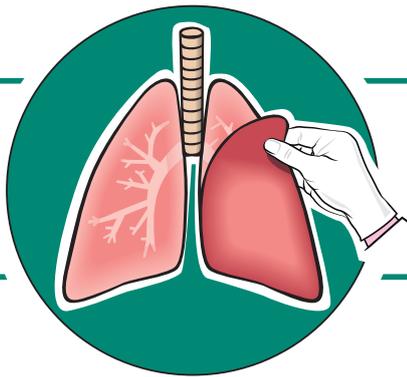
Objectif, méthode et résultats

Dans cette étude, nous démontrons que la tolérance immunologique après greffe d'organe chez le rat est associée à une expression réprimée de plusieurs enzymes de la voie de transsulfuration, incluant la cystathionine Γ -lyase (CSE). Le blocage pharmacologique de la CSE avec la propargylglycine (PPG) a retardé le rejet d'allogreffe et a abrogé les réactions d'hypersensibilité de type IV, sans pour autant modifier les réponses anticorps. Ce blocage était également associé à l'inhibition des facteurs TH-1 T-bet, IL-12 et IFN γ . La répression de l'IL-12 a aussi pu être induite par le PPG *in vitro* dans des monocytes et des cellules dendritiques, sans implication de la voie NF κ B ni du sulfure d'hydrogène, mais de manière dépendante du taux intracellulaire en cystéine. Le taux intracellulaire en cystéine était dominé par l'activité de la CSE dans les DC, ainsi que par l'import de cystéine par le transporteur Xc-.

Discussion/perspectives/conclusion

Ces résultats indiquent que la CSE joue un rôle critique dans la régulation de l'IL-12 dans les monocytes et les cellules dendritiques et est sous-exprimée dans les états de tolérance immunologique, participant ainsi au maintien de la tolérance après transplantation. La manipulation pharmacologique de la CSE peut donc constituer une voie thérapeutique pour moduler les réponses immunes.

Contact : bernard.vanhove@univ-nantes.fr



Conférence 14-15 novembre 2013

Les progrès en transplantation pulmonaire :

33 projets de recherche pour faire évoluer les pratiques



Un programme de recherche piloté par...

Vaincre la Mucoviscidose

Vaincre la Mucoviscidose est une association reconnue d'utilité publique, créée en 1965 par des parents de jeunes patients et des soignants. Elle se consacre à l'accompagnement des malades et de leur famille dans chaque aspect de leur vie bouleversée par la maladie. **L'association est organisée autour de quatre missions prioritaires : guérir, soigner, améliorer la qualité de vie, informer et sensibiliser.**

Une association transparente, rigoureuse et contrôlée

Vaincre la Mucoviscidose est membre du Comité de la charte du don en confiance, se soumet annuellement au contrôle de cet organisme et s'engage à respecter ses règles de rigueur de gestion et de transparence.

Des progrès mesurables

À la création de l'association en 1965, l'espérance de vie était de 7 ans. **Grâce à la générosité du public et à l'action de l'association**, l'on se dirige aujourd'hui vers une espérance de vie à la naissance de 50 ans. La recherche avance, de nouvelles pistes sont à explorer, nourrissant de réels espoirs de progrès. **Vaincre la Mucoviscidose poursuit sa lutte déterminée en ce sens, pour faire reculer la maladie et ainsi avancer vers la guérison.**

Un puissant réseau

- ▶ **92 000** donateurs
- ▶ **30 000** bénévoles
- ▶ **6 800** adhérents
- ▶ **30** délégations territoriales
- ▶ **de nombreux partenaires**

Repères financiers

- ▶ **1^{er} financeur** de la recherche en mucoviscidose en France
- ▶ **70 projets** de recherche financés en 2013, soit **2,8 millions d'euros**
- ▶ **96 postes et projets** financés en 2013 dans 50 centres de soins et de transplantation, à hauteur de **1,5 million d'euros**
- ▶ **376 projets** de recherche financés ces 4 dernières années, soit **14,5 millions d'euros** investis.
- ▶ **4,4 millions** d'euros dédiés à un programme de recherche en transplantation pulmonaire, cofinancé avec l'Association Grégory Lemarchal sur cinq ans.
- ▶ **763 000 euros** consacrés à l'accompagnement des patients et de leur famille en 2012, pour faire face aux surcoûts liés à la maladie.

cofinancé avec...

L'Association Grégory Lemarchal

L'Association Grégory Lemarchal est une association à but non lucratif, reconnue d'intérêt général. **Elle a été créée en juin 2007 par la famille de l'artiste Grégory Lemarchal après son décès**, à 24 ans, des suites de la mucoviscidose. Elle est

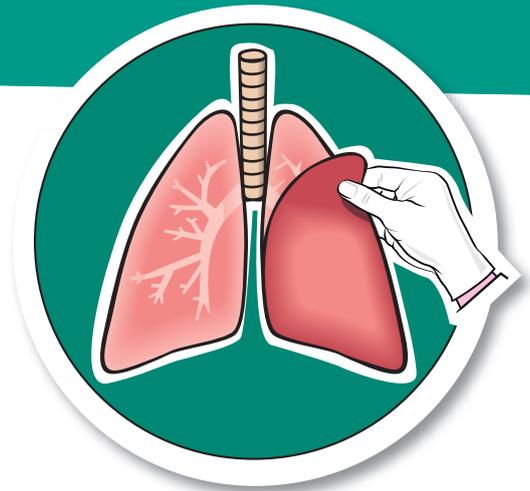
placée sous le contrôle d'un **Conseil d'administration de 15 membres, constitué principalement de soignants et de familles concernées par la mucoviscidose**. Elle peut compter sur 300 bénévoles partout en France.

Ses missions : financer la recherche, améliorer la qualité de vie des patients, sensibiliser sur la réalité de la maladie et informer sur le don d'organes.

Chiffres et dates clés

La transplantation en quelques dates

- ▶ **1963** : 1^{re} greffe mono-pulmonaire dans le monde
- ▶ **1980** : 1^{re} greffe mono-pulmonaire en France
- ▶ **1980** : 1^{re} utilisation de la Ciclosporine, agent immunosuppresseur ayant permis des progrès considérables en prévenant le rejet
- ▶ **1981** : 1^{re} greffe cœur-poumons dans le monde
- ▶ **1982** : 1^{re} greffe cœur-poumons en France
- ▶ **1986** : 1^{re} greffe bi-pulmonaire dans le monde
- ▶ **1987** : 1^{re} greffe bi-pulmonaire en France
- ▶ **1987** : 1^{re} cœur-poumons chez un patient atteint de mucoviscidose
- ▶ **1988** : 1^{re} greffe bi-pulmonaire chez un patient atteint de mucoviscidose



➔ En 2012...

- ▶ **322 greffes de poumons** ont été réalisées, dont 96 chez des personnes atteintes de mucoviscidose.
- ▶ **568 patients** atteints de mucoviscidose sont porteurs d'un greffon pulmonaire.
- ▶ **31 patients** atteints de mucoviscidose sont porteurs d'un greffon cœur-poumons.
- ▶ **67,4%** des personnes inscrites sur la liste d'attente ont bénéficié d'une greffe pulmonaire.

Source : Agence de la biomédecine

vaincrelamuco.org



VAINCRE LA MUCOVISCIDOSE
ASSOCIATION RECONNUE D'UTILITÉ PUBLIQUE,
HABILITÉE À RECEVOIR DES LEGS, DES DONATIONS ET DES ASSURANCES-VIE
181, rue de Tolbiac - 75013 Paris
Tél. 01 40 78 91 91 - Fax 01 45 80 86 44

