

APPORT DE LA BIOLOGIE DANS LA GREFFE RENALE D'UN DONNEUR VIVANT

Wafaa Arache, Abdelali Bahadi, Driss El kabbaj

Service de Néphrologie, dialyse et transplantation rénale. Hôpital militaire d'instruction Med V Rabat.

RESUME

La greffe rénale est avant tout un projet de société, basé sur un don de générosité et de solidarité. L'activité spécifique de la transplantation rénale à partir d'un donneur vivant nécessite une étroite collaboration entre les cliniciens et les biologistes. Plus que jamais, la collaboration clinico-biologique est primordiale dans ce champ médical vu la multitude des progrès actuelles de plus en plus performants en terme de diagnostic et de suivi d'un projet de greffe.

Mots clés : transplantation rénale avec donneur vivant, incompatibilité système ABO, typage HLA, anticorps anti-HLA, cross match.

ABSTRACT

The kidney transplant is above all a social project, based on a gift of generosity and solidarity. The specific activity of kidney transplantation from a living donor requires close collaboration between clinicians and biologists. More than ever, clinico-biological collaboration is paramount in this medical field given the multitude of current advances that are becoming more and more effective in terms of diagnosis and follow-up of a transplant project.

Key words: living donor kidney transplantation, ABO system incompatibility, HLA typing, HLA antibodies, cross match.

INTRODUCTION

La transplantation rénale est le traitement de suppléance le plus efficace, le plus efficace et le moins coûteux. Les études s'intéressant à ces patients indiquent que leur pronostic vital [1] et fonctionnel [2, 3] est transformé par la réalisation d'une greffe rénale mais son développement est contraint par le manque de disponibilité. La greffe avec donneur vivant présente de nombreux avantages pour le receveur [3-7]. La stratification du niveau de risque immunologique est un point particulièrement important dans la gestion des patients malgré les avancées actuelles repoussant les barrières immunologiques (greffe ABO incompatible, « désimmunisation »).

HISTOIRE DE LA GREFFE RENALE

La première greffe réalisée avec un succès durable a été pratiquée le 23 décembre 1954, à Boston, entre deux frères jumeaux. Les donneurs vivants, alors choisis dans la famille la plus proche possible afin de répondre aux exigences de compatibilité tissulaire, sont restés la seule source de greffons jusqu'en 1963, date de la première greffe avec donneur cadavérique. En raison de la préférence accordée aux greffons d'origine cadavérique, les transplantations rénales avec donneur vivant ont connu une éclipse importante en France [8,9].

La première greffe rénale avec donneur vivant a été réalisée au Maroc en 1986 avec une aide étrangère, en 1990 a été réalisé la 1ère greffe rénale à partir de donneur vivant avec une équipe marocaine et en 2011 on a recensé 151 greffes à partir de donneurs vivants [10].

ETATS DES LIEUX DE LA TRANSPLANTATION RENALE AU MAROC

Le Maroc dispose depuis 2005 du registre « MAGREDIAL » (Maroc-Greffe-Dialyse) des traitements de suppléance de l'IRCT. Dans le premier rapport annuel du MAGREDIAL (2009), la prévalence brute de l'IRCT a été estimée à 267,1 pmh. L'incidence a été estimée entre 100 et 150 pmh en 2010 [10-13]. L'activité de greffe rénale est encore très faible au Maroc. En 2012, elle était de 36 greffes rénales pour l'ensemble du pays contre 16 en 2007. On recense moins de 10 greffes par an par million d'habitants avec un nombre de sujets en IRCT en dialyse estimé à 13 000 en fin 2013 au Maroc, le besoin attendu en greffe rénale serait de 7 410 [14].

LA CONSULTATION PRE TRANSPLANTATION RENALE

La HAS recommande d'informer les patients sur les possibilités de greffe 12 à 18 mois avant le début anticipé d'un éventuel traitement de suppléance [15, 16], l'objectif étant de minimiser la dialyse voire de l'éviter (greffe préemptive). Le donneur vivant potentiel est essentiellement sélectionné sur l'absence d'incompatibilité avec le receveur et de co-morbidités contre-indiquant le prélèvement d'un rein et en conformité avec la loi.

En première intention, un bilan biologique incluant la détermination du groupe sanguin, de la glycémie à jeun et de la créatininémie, l'estimation du débit de filtration glomérulaire, ainsi que la recherche d'une hématurie et d'une protéinurie. S'il satisfait les attentes médicales, des investigations plus approfondies morphologiques et immunologiques et un bilan général, notamment cardiologique et

infectieux sont réalisés. Si plusieurs donneurs sont compatibles, on peut retenir celui ayant le plus de compatibilités HLA avec le receveur ou ayant la moins grande différence d'âge avec le donneur.

LE BILAN IMMUNOLOGIQUE PREGREFFE

C'est l'étude de l'expression de la réponse immune du receveur vis à vis d'un greffon génétiquement non identique. Cette réponse est essentiellement dirigée contre les antigènes (Ag) de groupes sanguins érythrocytaires ABO et les Ag d'histocompatibilité portés par les cellules du greffon. Les Ag d'histocompatibilité sont codés par les gènes du complexe majeur d'histocompatibilité, appelé HLA (Human Leucocytes Antigens) chez l'homme. On distingue essentiellement les gènes de classe I (locus A, B, C) et les gènes de classe II (locus DR, DP, DQ). En transplantation rénale, La compatibilité ABO est obligatoire dans les greffes rénales à partir de donneur cadavérique, alors qu'elle n'est plus une barrière dans les greffes avec donneur vivant.

Le système ABO

Le groupage ABO se fait selon des techniques d'agglutination classiques, sur deux prélèvements différents, selon deux techniques, avec deux lots de réactifs différents. Les règles de compatibilité ABO sont les mêmes que pour les transfusions de concentrés de globules rouges. Les anticorps anti-A et anti-B de type IgM sont des anticorps présents systématiquement, des allo-anticorps anti-A/B de type IgG étant également présents chez certains individus. Certaines équipes utilisent un support « tube » et d'autres, majoritaires, un support de microfiltration pour révéler l'hémagglutination, les résultats obtenus étant dans les deux cas superposables [17]. Certaines équipes recourent à la cytométrie en flux, mais le délai de rendu des résultats est plus long et elle nécessite un personnel formé et disponible.

Il est maintenant possible d'envisager des greffes avec donneur vivant incompatible dans le système ABO, sous réserve d'une « désimmunisation » préalable afin de diminuer le titre d'anticorps anti-A et/ou anti-B de type IgG et IgM à un niveau acceptable au moment de la greffe, d'empêcher leur réapparition et de favoriser l'acquisition d'un état d'accommodation [18]

La « désimmunisation » est obtenue par injection de rituximab un mois avant la greffe associées à des échanges plasmatiques avec du Plasma Frais Congelé .ce traitement peut également être associé à des immunoglobulines polyvalentes. Les titres d'anticorps anti-A et/ou-B sont suivis lors de chaque échange plasmatique et aussi fréquemment dans les quinze premiers jours suivant la transplantation.

Typage HLA

Il précise le degré de compatibilité tissulaire, la compatibilité HLA entre donneur et receveur est établie au minimum sur la comparaison des typages des molécules HLA-A, -B, -DR, -DQ. Le typage HLA doit être réalisé sur deux prélèvements différents et avec deux techniques distinctes :

- A. le typage par lymphocytotoxicité LCT «sérologique » : les molécules HLA exprimées à la surface des lymphocytes sont identifiées grâce à des anticorps monoclonaux cytotoxiques dirigés contre des molécules HLA de spécificité connue. Si les anticorps se fixent sur les antigènes de la surface cellulaire, un complexe antigène-anticorps se constitue et le complément est alors spécifiquement activé. Il s'ensuit une lésion membranaire irréversible entraînant la lyse des lymphocytes, visualisée par microscopie inversée à fluorescence.
- B. Le génotypage : Les méthodes de biologie moléculaire les plus utilisées sont la PCR-SSO (Polymerase Chain Reaction-Specific Sequence Oligonucleotide) qui consiste à amplifier toute la région HLA avec un couple d'amorces et à l'hybrider avec un panel de sondes oligonucléotidiques spécifiques et la PCR-SSP (PCR-Specific Sequence Primer) qui permet d'amplifier directement les allèles HLA en utilisant un panel d'amorces spécifiques. La technologie Luminex, récemment développée associant la PCR-SSO et la cytométrie de flux. En pratique, les laboratoires utilisent généralement la sérologie pour déterminer les Ag HLA de classe I, avec un complément d'examen par biologie moléculaire en cas d'ambiguïté, et la biologie moléculaire pour la classe II [19].

Suivi immunologique des anticorps anti HLA

Il a pour but de déceler les éventuels anticorps anti-HLA présents chez le receveur et dirigés contre les molécules HLA du futur greffon, appelés Donor Specific Antibodies (DSA), pouvant être responsables d'une diminution de la durée de survie du greffon [20,21]. Ces anticorps peuvent apparaître à la suite de grossesses, de transfusions sanguines ou de greffes d'organes antérieures. Cette analyse est réalisée selon la technologie LuminexTM qui recourt à des microsphères en polystyrène fluorescentes, recouvertes de molécules HLA purifiées. Cet instrument de type cytomètre, est capable d'identifier individuellement une centaine de billes et de détecter de la fluorescence à leur surface [22,23]. Parallèlement, la recherche d'anticorps anti-HLA doit être aussi réalisée par un test de LCT, il permet de repérer d'éventuels anticorps d'isotype IgM qui ne sont pas décelés par la technologie LuminexTM et de

dépister des anticorps anti-HLA cytotoxiques qui ne sont pas révélés par Luminex™ du fait d'un effet prozone [24].

Le cross match (CM)

Il est le test ultime qui permet la détection rapide d'anticorps anti donneurs cytotoxiques, préformés dans le sérum du receveur, responsables d'un rejet hyper-aigu. Le CM fait interagir le sérum à tester, du receveur, avec les lymphocytes du donneur potentiel, en présence du complément. Plusieurs sérums sont testés : le sérum du jour, les plus récents ainsi que tous les sérums historiques connus positifs. Le taux d'Ac étant fluctuant dans le temps, une immunisation peut ne pas être détectée par le CM pré greffe. Cependant, comme la mémoire immunitaire persiste, la transplantation peut réactiver l'immunisation et provoquer ainsi le rejet suraigu. La technique la plus

utilisée est la LCT, les lymphocytes du donneur sont séparés en T et B, puis incubés avec les sérums du receveur, à différentes dilutions. Par ailleurs, un CM en présence d'antiglobuline humaine (CM sensibilisé), réalisé en parallèle, permet d'augmenter la sensibilité du test. Le CM peut également être réalisé par cytométrie de flux. Les lymphocytes du donneur sont incubés avec les sérums du receveur. Cette technique est actuellement la plus sensible. Ainsi un CM négatif chez un receveur ayant un suivi immunologique régulier autorise la greffe alors qu'un CM positif avec des Ac anti HLA de classe I contre indique la greffe. En dehors de ses deux situations, la décision de greffer dépendra de la spécificité de l'Ac détecté (Ac HLA (délétère) ou d'un auto Ac (non délétères)) et dans ce cas, l'auto CM permet de trancher et de l'isotype de l'Ac est également déterminant (les IgG sont plus dangereux que les IgM)

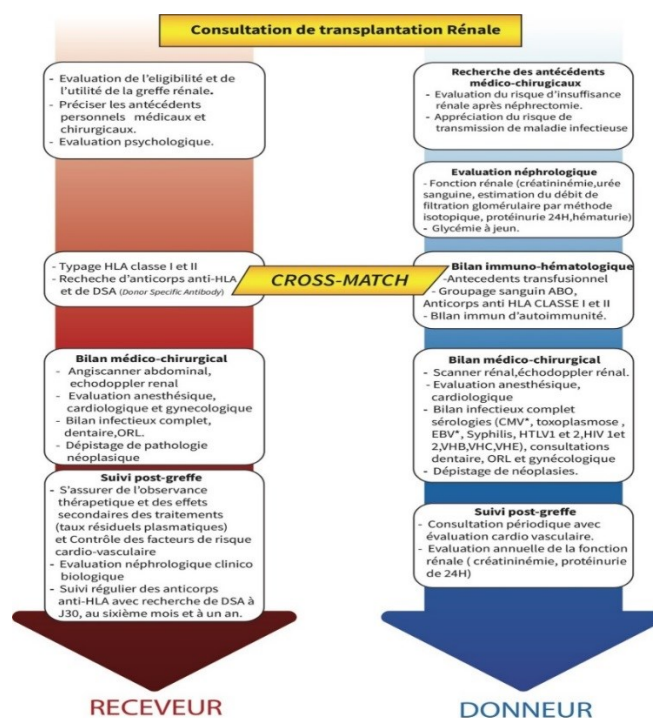


Figure 1 : Parcours du donneur et du receveur en vue d'une greffe rénale d'un donneur vivant au service de transplantation à L'Hôpital militaire de Rabat

CONCLUSION

Le don de rein est une expérience humaine sans équivalent et un acte altruiste remarquable dont la réussite nécessite une indispensable collaboration multidisciplinaire entre cliniciens biologistes radiologistes et chirurgiens.

REFERENCES

- 1- Tonelli M, Wiebe N, Knoll G, Bello A, Browne S, Jadhav D, et al. Systematic review : kidney transplantation compared with dialysis in clinically relevant outcomes. Am J Transplant 2011 ; 11 (10) : 2093-109.
- 2- Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Agodoa LY, et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. N Engl J Med 1999 ; 341 (23) : 1725-30.
- 3- Laupacis A, Keown P, Pus N, Krueger H, Ferguson B, Wong C, et al. A study of the quality of life and cost

- utility of renal transplantation. *Kidney Int* 1996 ; 50(1) : 235-42.
- 4- Liem YS, Bosch JL, Arends LR, Heijtenbroek-Kal MH, Hunink MG. Quality of life assessed with the Medical Outcomes Study Short Form 36-Item Health Survey of patients on renal replacement therapy: systematic review and meta-analysis. *Value Health* 2007 ; 10 (5) :390-7.
- 5- Alvares J, Cesar CC, Acúrcio F de A, Andrade EI, Cherchiglia ML. Quality of life of patients in renal Replacement therapy in Brazil: comparison of treatment modalities. *Qual Life Res* 2012 ; 21 (6) : 983-91.
- 6- Garcia-Garcia G, Harden P, Chapman J. The global role of kidney transplantation for the world kidney day steering committee 2012. *Int J Organ Transplant Med* 2012 ; 3 (1) : 1-8.
- 7- http://www.agence-biomedecine.fr/IMG/pdf/2012_plan_greffe_vdef2.pdf
- 8- <http://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2014/donnees/organes/06-rein/synthese.htm>
- 9- http://circulaire.legifrance.gouv.fr/pdf/2013/07/cir_37285.pdf Protocole et premier rapport annuel du registre de l'insuffisance rénale chronique terminale MAGREDIAL.
- 10- http://nephromaroc.org/MAGREDIAL/ProtocoleMAGREDIAL_NOV_2008.pdf: 2014.
- 11- Benganem GM. Renal replacement therapies for end-stage renal disease in North Africa. *Clin Nephrol* 2010; 7 Suppl 1: 17-19
- 12- Ministère de la santé du Maroc. Résultats de l'enquête sur la maladie rénale chronique au Maroc. <http://srvweb.sante.gov.ma/Pages/communiqu%C3%A9.aspx?communiqueID=40>: 2014.
- 13- Ricci P., Blotière PO., Weill Alain. Diabète traité : quelles évolutions entre 2000 et 2009 en France ? *Bull Epidémiol Hebd* 2010; (42-43): 434-40.
- 14- Benganem GM. Les obstacles au développement de la greffe, exemple de la greffe rénale au Maroc. Agence de la Biomédecine. 5ème colloque France-Maghreb sur la transplantation d'organes, de tissu et de cellules– Nice 23-24 mars 2012
- 15- http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2015-12/rbp_recommandations_greffe_renale_vd_mel.pdf
- 16- http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2012-04/guide_parcours_de_soins_mrc_web.pdf
- 17- Cheng D, Hao Y. Comparative evaluation of the microcolumn gel card test and the conventional tube test for measurement of titres of immunoglobulin G antibodies to blood group A and blood group B. *J Int Med Res* 2011 ; 39 (3) : 934-43.
- 18- Böhmig GA, Farkas AM, Eskandary F, Wekerle T. Strategies to overcome the ABO barrier in kidney transplantation. *Nat Rev Nephrol* 2015 ; 11 : 732-47.
- 19- Piazza A, Poggi E, Ozzella G, Borrelli L, Monaco PI, Scornajenghi A et al. Public epitope specificity of HLA class I antibodies induced by failed kidney transplant: alloantibody characterization by flow cytometric techniques. *Transplantation* 2006; 81: 1298-1305
- 20- Lefaucheur C, Loupy A, Hill GS, Andrade J, Nochy D, Antoine C, et al. Preexisting donor-specific HLA antibodies predict outcome in kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2010 ; 21 (8) : 1398-406.
- 21- Loupy A, Hill GS, Jordan SC. The impact of donor-specific anti-HLA antibodies on late kidney allograft failure. *Nat Rev Nephrol* 2012 ; 8 (6) : 348-57.
- 22- Del Bello A, Congy N, Sallusto F, Cardeau-Desangles I, Fort M, Esposito L, et al. Anti-human leukocyte antigen immunization after early allograft nephrectomy. *Transplantation* 2012 ; 93 (9) : 936-41.
- 23- Guidicelli G, Guerville F, Lepreux S, Wiebe C, Thauinat O, Dubois V, et al. Non-complement-binding de novo donor-specific anti-HLA antibodies and kidney allograft survival. *J Am Soc Nephrol* 2016 ; 27 (2) : 615-25.
- 24- Schnaidt M, Weinstock C, Jurisic M, Schmid-Horch B, Ender A, Wernet D. HLA antibody specification using single-antigen beads—a technical solution for the prozone effect. *Transplantation* 2011 ; 92 (5) : 510-5.