



Machines de perfusion et transplantation rénale : passé, présent et avenir

Machine perfusion and kidney transplant: past, present and future

J. Dantal*

RÉSUMÉ

» La perfusion hypothermique des greffons rénaux est depuis longtemps une alternative à la conservation statique à froid. Il a été montré que cette technique était plus efficace en termes de néphroprotection et de prévention de reprise retardée de fonction, permettant d'espérer un bénéfice sur la survie du greffon ainsi qu'un gain économique. Sa place devient donc de plus en plus importante, d'autant plus que nous assistons à une modification du profil des donneurs, avec une majorité de donneurs dits à risque (donneurs à critères élargis et donneurs décédés après arrêt cardiocirculatoire) qui, d'après toutes les études, étaient ceux qui bénéficiaient le plus de ces techniques de conservation. La perfusion ex vivo permet aussi l'évaluation des greffons, la réalisation d'interventions thérapeutiques en amont de la greffe et, comme cela a été montré récemment, de "réparer" certains greffons initialement récusés. Ces techniques sont donc très prometteuses, bien que, en vue de leur optimisation, il reste à en explorer de nombreux axes.

Mots-clés : Machine de perfusion – Ischémie-reperfusion – Transplantation rénale.

RESUMEN

Hypothermic machine perfusion of kidney transplants is an alternative to static cold storage since a long time. This technique was shown more effective in terms of nephroprotection and prevention of delay graft function allowing to the hope for a benefit on the graft survival as well as medical costs. Thus, its place becomes more important especially as we attend a change of the profile of the donor with a majority of high-risk donors (expanded criteria donors and cardiac death donors) who, in all studies are the ones who benefit most from HMP. The HMP also allows the assessment of the viability and quality of the kidney graft, some therapeutic interventions before transplantation and, as recently evidenced, is able to rescue kidneys previously deemed unsuitable for transplantation. Indeed, HMP has promising prospects for the future of clinical transplantation but numerous axes still remain to explore to optimize these techniques.

Keywords: Machine perfusion – Ischemia-reperfusion injury – Kidney transplantation.

Pour des receveurs sélectionnés, la transplantation rénale (TR) est le meilleur des traitements de l'insuffisance rénale terminale. Néanmoins, la proposition de ce traitement est limitée par le nombre de greffons acceptables. Le développement de la TR à partir de donneurs vivants progresse en France, mais ne répondra pas à l'augmentation de la demande de greffons et, comme le nombre de donneurs dits "optimaux", décédés en état de mort encéphalique, stagne, voire diminue, il est nécessaire d'avoir recours à des sources de greffons alternatives dites "marginales". C'est le cas des donneurs décédés répondant à des critères de sélection dits élargis (*Expanded Criteria Donor* [ECD]) [encadré, p. 150] et des donneurs décédés après arrêt cardiocirculatoire (DDAC). Ces 2 catégories de donneurs sont de plus en plus utilisées bien qu'ils soient plus à risque de non-fonction primaire (NFP) et de retard de

reprise de fonction du greffon (RRF), défini classiquement par un besoin de dialyse dans la première semaine suivant la TR. Le RRF augmente le coût de la TR, car cette dernière nécessite le recours à l'épuration extrarénale après la greffe et prolonge la durée d'hospitalisation, mais elle est aussi associée à une augmentation du risque de rejet aigu et à une diminution de la survie du greffon à moyen terme (2).

La diminution du taux de RRF est donc un enjeu clé, justifiant que la TR soit une urgence afin de raccourcir toutes les phases de son processus et, ainsi, de minimiser le plus possible la durée du temps d'ischémie froide (IF) [3]. L'amélioration de la préservation des organes concourt à cet objectif, d'autant plus que le profil des donneurs évolue et que la traditionnelle conservation statique à froid (*Cold Storage* [CS]) ne semble plus idéale pour les greffons provenant d'ECD

*Service de néphrologie, immunologie clinique et transplantation, institut de transplantation, urologie, néphrologie (ITUN), CHU de Nantes.

Encadré. Donneur à critères étendus : définition (1).

Greffons présentant un risque d'échec 1,7 fois supérieur à ceux de donneurs standard

Âge du donneur > 60 ans

Âge du donneur > 50 ans en cas :

- de décès de cause vasculaire
- de créatininémie > 1,5 mg/dl (137 mmol/l)
- d'antécédent d'hypertension artérielle

et de DDAC (4). La CS était la méthode la plus utilisée, car elle était facile à mettre en place, aisément transportable, peu coûteuse, et ne demandait ni maintenance ni canulation des vaisseaux. Néanmoins, la conservation hypothermique sur machine de perfusion (HMP, *hypothermic machine perfusion*), plus coûteuse et plus lourde à organiser (cf. page 140, "Organisation pratique et logistique de la perfusion rénale", de M. Videcoq), tend à progressivement remplacer la CS pour les greffons provenant d'ECD ou de DDAC. Cet article envisage l'apport des techniques de perfusion ex vivo pour la TR, à l'exclusion des améliorations touchant les liquides de conservation.

Machines de perfusion : un peu d'histoire

La possibilité de maintenir la fonction des organes en dehors du corps a fasciné et mobilisé une recherche expérimentale remontant à plus de 2 siècles. Un physiologiste français, J.J. Le Gallois, a évoqué dès 1812 la possibilité de perfuser des organes vitaux, et les premières tentatives de perfusion rénale remontent aux travaux de C. Lobell, en 1849. C'est finalement autour des années 1935 et avec l'arrivée de systèmes de pompes que A. Carrel, pionnier de la chirurgie vasculaire et prix Nobel de physiologie ou médecine en 1912, aidé de façon inattendue par l'aviateur Charles Lindbergh, réussira à maintenir des organes entiers perfusés ex vivo (thyroïdes fonctionnelles, contraction de cœur de chat pendant une douzaine d'heures). Malheureusement, à cette époque, la perfusion rénale était un échec. Ce n'est qu'avec l'émergence de la transplantation d'organes, dans les années 1960, et la possibilité d'envisager des greffons issus de donneurs décédés que le circuit de Lindbergh a été repris pour permettre la perfusion de plus gros organes. À cette époque, la TR était réalisée à partir de donneurs vivants, avec un minimum de temps d'IF, et ne posait pas ou peu de problèmes de RRF du greffon ou de NFP. Les résultats expérimentaux sur des chiens obtenus avec la CS n'étaient pas bons (les reins canins étaient irrémédiablement lésés

au-delà de 9 heures d'IF). L'intérêt de la perfusion rénale ex vivo est réapparu rapidement après les travaux de A.G. Lapchinsky combinant une perfusion à bas débit et un refroidissement entre 2 et 4 °C, puis ceux de R. Calne, montrant qu'il était possible de maintenir la fonctionnalité de reins de chiens pendant au moins 24 heures, et que ces reins reprenaient une fonction après 14 heures de perfusion dans un modèle d'allo-transplantation. Par la suite, les perfusats acellulaires et synthétiques ont remplacé le sang ou le plasma, permettant à A. Humphries et F. Belzer de préserver des reins de chiens pendant 3 à 7 jours et, finalement, de pratiquer la première TR chez l'homme après 17 heures de préservation sur machine en août 1967 (le receveur ayant dû se déplacer sur le lieu du prélèvement). F. Belzer a été le premier à proposer une machine transportable pour permettre d'augmenter les échanges de greffons et de diminuer l'impact de l'IF (figure 1) [5]. Ainsi, le premier envoi transocéanique d'un greffon rénal a été réalisé en décembre 1971 après 37 heures de voyage au total et un vol en première classe ! L'emploi des machines de perfusion ne s'est ensuite pas développé (systèmes complexes, difficultés de gestion logistique, coût) car, à cette époque, la qualité des liquides de conservation avait progressé, permettant une CS à 4 °C avec de bons résultats, mais pour des greffons de bien meilleure qualité qu'aujourd'hui. G. Collins avait proposé une solution qui, riche en potassium, en phosphate et en mannitol, pouvait être osmotiquement active et lutter contre l'œdème cellulaire induit par l'ischémie. Cette solution a été utilisée pendant plus



Figure 1. La perfusion rénale hypothermique. Machine de Belzer utilisée en Californie dans les années 1960.

de 20 ans. Modifiée (retrait du magnésium et ajout de glucose), elle deviendra l'Euro-Collins couramment utilisée à partir de 1977 en Europe. Néanmoins, les résultats restaient médiocres pour les greffons autres que rénaux et c'est ainsi qu'est apparue, fin 1980, la solution UW (dite de l'université du Wisconsin ou solution de Belzer), qui marquera un tournant évolutif en permettant d'accroître les temps d'IF tout en améliorant les résultats des transplantations hépatiques, pancréatiques mais aussi rénales. Cette solution reste une référence bien que de nouvelles solutions de conservation aient prouvé leur efficacité en améliorant leur composition (liquides dits de composition extra-cellulaire, comme l'IGL-1®). L'utilisation des machines de perfusion est revenue au-devant de la scène à la fin des années 1990 aux États-Unis, en raison de plusieurs études, montrant leur intérêt pour les reins marginaux et les greffons issus de donneurs à cœur arrêté (DDAC, Maastricht II et III). D'autre part, leur utilisation a été grandement facilitée par la miniaturisation des machines devenues plus facilement transportables et, en Europe, depuis la publication, en 2009, des résultats favorables de la première grande étude randomisée (5) utilisant la machine LifePort Kidney Transporter (Organ Recovery Systems, États-Unis) [figure 2], justifiant ainsi un large plan d'action en 2010, en France, afin de proposer une mise sur machine pour les greffons de type ECD.

Grands mécanismes impliqués dans l'effet de la perfusion continue

Les mécanismes d'action sont multiples, mais, très brièvement, nous pouvons retenir quelques grands principes issus des travaux expérimentaux. L'élimination par lavage des déchets toxiques produits par le métabolisme anaérobie est intuitive et reste mal connue. Ces facteurs participent à l'activation de l'inflammation et de l'immunité innée au niveau du greffon. Dans un modèle de transplantation hépatique, la perfusion continue, comparativement à la CS, est associée à une diminution significative de l'expression des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II et de celles de l'adhésion (ICAM-1). Pour des greffons rénaux humains, l'HMP entraîne une diminution de l'expression du *Transforming Growth Factor* β (TGF β) et une surrégulation de facteurs transcriptionnels anti-inflammatoires et antiapoptotiques (par exemple, A20). Les différentes études cliniques mettent en évidence une réduction significative des taux de TNF α , d'interleukine 2 (IL-2), d'IL-1 β ainsi que de ICAM-1 soluble après HMP en comparaison de la CS (6).

La préservation de la fonction de la cellule endothéliale par l'HMP est un des mécanismes clés. Privées de flux in vitro (forces de cisaillement [*Shear Stress*]), les cellules endothéliales (mais aussi tubulaires) de rein humain entrent en apoptose, alors que, soumises à un flux laminaire (les intégrines pourraient jouer le rôle de mécanorécepteurs), elles gardent leur morphologie et sont capables de poursuivre leur croissance. Le rétablissement d'un flux induit aussi une vasodilatation ainsi qu'une surrégulation du facteur de transcription KLF2 et de ses effecteurs d'aval (*endothelial nitric oxide synthase* [eNOS] et thrombomoduline). L'HMP préserve les voies de signalisation de l'oxyde nitrique (NO) et entraîne une amélioration du flux cortical en comparaison de la CS (modèle d'autotransplantation de rein chez le porc) [7]. À l'opposé, une forte pression de perfusion réduit l'impact de l'HMP, imposant donc un contrôle strict des débits et pressions lors de la procédure pour ne pas être délétère pour le greffon. La notion de pulsatilité semble aussi importante. Deux machines sont actuellement largement répandues sur le marché : la machine RM3 (Waters Medical Systems) [figure 3, p. 152] et la machine LifePort Kidney Transporter (figure 2). Leurs paramètres de perfusion diffèrent : la RM3 assure une perfusion pulsatile par bolus d'une fréquence adaptable avec une courbe de pression proche de la physiologie normale (différence entre les pressions maximales et minimales de 25 mmHg), le LifePort Kidney Transporter assure une perfusion au moyen d'une pompe à galet avec des variations de pressions plus faibles et moins physiologiques (différence pouvant aller de 5 à 10 mmHg). L'HMP pulsatile permet une meilleure protection dans les modèles



Figure 2. Machine LifePort® Kidney Transporter.

Dossier



Figure 3. Machine RM3® (Waters Medical Systems, États-Unis) avec le système Waves® transportable dérivé de la RM3.

expérimentaux, mais une seule étude clinique compare les 2 types de machines (8). Dans cette étude, pour les 25 paires de greffons placées soit sur l'une ou l'autre des machines, les pourcentages de RRF étaient identiques, mais il existait une tendance à de meilleurs résultats (nombre de dialyses, survie, fibrose à 1 an) pour les greffons mis sur machine LifePort Kidney Transporter. Ces résultats, qui demandent à être confirmés car ils contredisent ceux obtenus chez l'animal, pourraient être expliqués par un effet délétère de pressions de perfusion trop élevées. Actuellement il n'existe aucun argument pour privilégier l'une ou l'autre des machines.

Machines de perfusion : résultats en transplantation rénale

Résultats globaux

Les résultats de nombreuses études, en général rétrospectives et/ou non randomisées, ont été publiés, utilisant soit la machine RM3, soit la machine LifePort Kidney Transporter, soit indifféremment l'une ou l'autre. Ces études rapportent une diminution du taux de RRF, et certaines font état d'une amélioration significative de la fonction rénale à 2 ans ou d'une amélioration de la survie du greffon rénal à 5 ans. Une méta-analyse de 16 études réalisées entre 1971 et 2001 comparant l'HMP et la CS montre que le risque de RRF du greffon rénal est diminué par l'HMP (RR = 0,80 ; IC₉₅ : 0,67-0,96). En revanche, aucun effet sur la survie du greffon à 1 an n'a été retrouvé. En fait, la méthodologie et la puissance statistique de ces études initiales restent médiocres, et la première étude

prospective randomisée comparant l'HMP et la CS pour tous types de donneurs décédés a été rapportée par Eurotransplant en 2009 (MP-Trial [5]). Cette étude, utilisant exclusivement la machine LifePort Kidney Transporter, a analysé le devenir de 336 paires de greffons (un greffon conservé par HMP, le controlatéral par CS). Elle rapporte que l'HMP est associée à :

- ✓ une diminution significative du taux de RRF (20,8 versus 26,5 %, soit une réduction du risque de RRF de 43 %) ;
- ✓ une diminution significative de la durée de RRF en cas de survenue (10 versus 13 jours ; p = 0,04) ;
- ✓ une tendance à une réduction du taux de NFP (2,1 versus 4,8 % ; p = 0,08) ;
- ✓ et, surtout, une augmentation significative de la survie du greffon à 3 ans (9).

Ces résultats sont d'autant plus importants que tous les donneurs consécutifs étaient inclus (risque de RRF ou non, ECD ou non et DDACC) et que les délais d'IF étaient particulièrement courts (médiane de 15 heures), pouvant ainsi minimiser l'impact de l'HMP. Deux méta-analyses récentes ont rapporté des conclusions similaires et montré un effet bénéfique de l'HMP uniquement sur la RRF, sans effet significatif sur la NFP, la fonction du greffon, le taux de rejet ou la survie du patient et du greffon à 1 an (10).

Machines de perfusion et ECD

Dans l'analyse de sous-groupes de l'étude MP-Trial, le taux de NFP était significativement diminué pour cette catégorie de greffons, passant de 12 à 3 %. Le taux de RRF était diminué à 22 %, versus 29,7 %, montrant, après ajustement, que l'HMP réduisait significativement le risque de RRF (OR = 0,46 ; p = 0,047). Globalement, la survie du greffon à 1 et 3 ans était meilleure dans le groupe HMP que dans le groupe CS (92,3 versus 80,2 % à 1 an, 86 versus 76 % à 3 ans ; p = 0,036) [11]. Néanmoins, l'effet de l'HMP sur la survie du greffon ne reste significatif que pour les receveurs ayant présenté une RRF (85 versus 41 % à 1 an et 69 versus 33 % à 3 ans ; p = 0,009) [11]. Une méta-analyse portant sur les greffons issus d'ECD et regroupant 7 études publiées entre 2006 et 2013 retrouve un effet bénéfique de l'HMP sur le taux de RRF (OR = 0,59 ; IC₉₅ : 0,54-0,66) ainsi que sur la survie du greffon à 1 an (OR = 1,12 ; IC₉₅ : 1,03-1,21 ; p = 0,005) [12].

Machine de perfusion et donneurs décédés par arrêt cardiocirculatoire

Le nombre d'études pour cette catégorie de donneurs est plus faible et elles portent en général sur des donneurs de type M3. Dans ce cas, l'utilisation de l'HMP permet une diminution du taux de RRF et de la durée d'hospitalisation. Une étude rapporte une amélioration

de la fonction rénale à 1 an avec l'utilisation de l'HMP (créatininémie moyenne de 154 versus 193 $\mu\text{mol/l}$). Dans l'étude MP-Trial (82 donneurs de catégorie M3), l'utilisation de l'HMP réduit significativement l'incidence et la durée de la RRF (54 versus 69,5 % ; OR = 0,43 ; IC₉₅ : 0,20-0,89), mais le taux de NFP est similaire et relativement bas dans les 2 groupes (2,4 %) [13]. Dans cette étude, l'HMP est associée à une meilleure fonction rénale précoce (médiane de débit de filtration glomérulaire estimé [eDFG] à 1 mois de 46 versus 35 ml/mn ; $p = 0,027$), mais pas au-delà de 3 mois et elle n'a aucun effet sur la survie du patient et du greffon à 1 an. L'absence d'effet de la réduction de RRF sur la survie du greffon est inattendue, mais il existe des arguments pour penser que la nature de la RRF des greffons issus de DDACC n'a pas la même nature (métabolique, hémodynamique, hormonale, cytokinique) ni, donc, le même impact que celle de greffons de patients en état de mort encéphalique. À l'opposé, une étude randomisée anglaise (14) dans le cadre de laquelle, pour le même donneur ($n = 45$), un greffon était placé sur HMP et le deuxième en CS, rapporte une absence de différence de taux de RRF (58 versus 56 %) et de niveau de fonction rénale. Cette différence de résultats peut être expliquée par des différences de procédure de mise sur machine entre les 2 études. Dans l'étude MP-Trial, le greffon est placé sur machine immédiatement après le prélèvement, alors que, dans l'étude anglaise, il n'est mis sur machine qu'après réception au niveau du centre transplantateur et, donc, à la suite d'une phase de conservation en CS. Nous ne pouvons donc exclure que, pour observer un effet bénéfique de l'HMP, celle-ci doit être commencée immédiatement et maintenue de façon continue jusqu'à la TR. Deux méta-analyses ont été publiées récemment, rapportant les mêmes résultats que l'étude MP-Trial, à savoir une diminution significative du taux de RRF sans bénéfice sur le taux de NFP, de survie du patient ou du greffon à 1 an.

Évaluation du greffon sur machine

La mise sur machine de perfusion permet avant la greffe une évaluation du transplant qui était limitée en CS à l'analyse histologique extemporanée. Il est possible d'évaluer le greffon par la mesure des index de résistance (IR) et par l'analyse de certains biomarqueurs à partir du liquide de perfusion.

Index de résistance

Il est bien connu que les IR diminuent progressivement durant la perfusion, autorisant une augmentation du

débit de perfusion. Cette diminution, importante durant les 2 premières heures, peut se poursuivre jusqu'à 6 heures (15). De nombreuses équipes (américaines, surtout) utilisent, en plus des résultats de biopsie, les IR comme critères principaux d'acceptation ou de refus des greffons, ce qui biaise de nombreuses études rétrospectives ou observationnelles. Le taux de refus des greffons d'ECD est inférieur en cas de mise sur machine (30 versus 44 %) mais, parmi les greffons perfusés, ceux ayant des IR > 0,38 ont 8 fois plus de risques d'être refusés (environ 15 % des greffons d'ECD perfusés sont refusés en raison d'IR trop élevés). Les données collectées prospectivement dans le bras HMP de l'étude MP-Trial (les IR n'étaient pas révélés au moment de la proposition du greffon) montrent que les IR enregistrés à 4 heures et/ou à la fin de la perfusion sont clairement corrélés au risque de RRF et à une réduction de la survie du greffon à 1 an. Néanmoins, la valeur prédictive de RRF reste faible (analyse courbe ROC = 0,58) [16]. Une étude analysant 336 greffons perfusés consécutifs issus d'ECD montre que des paramètres de perfusion évalués comme mauvais (IR entre 0,4 et 0,6 mmHg/ml/mn) peuvent être associés à des résultats équivalents à ceux obtenus avec des greffons ayant de "bons" IR (15). En ce qui concerne les greffons issus de DDACC (M3 essentiellement), des IR élevés, lors de la mise sur machine, sont associés à un risque plus important de NFP (OR = 2,04 ; IC₉₅ : 1,36-3,06) et de RRF (OR = 2,34 ; IC₉₅ : 1,1-4,96), mais, ici aussi, la valeur prédictive des IR est faible (17). Ainsi, il n'est pas conseillé de donner de seuil au-dessus duquel un greffon doit être récusé et les IR ne doivent pas être utilisés isolément pour accepter ou non un greffon rénal.

Biomarqueurs prélevés sur le liquide de perfusion

Le dosage dans le liquide de perfusion de biomarqueurs à différents temps après la mise sur machine est un examen attractif car simple et non invasif. Les marqueurs les plus étudiés ont été ceux de la souffrance tissulaire globale (lactate déshydrogénase [LDH], Heart-type Fatty Acid Binding Protein [H-FABP]) ou de la souffrance tubulaire (glutathion S-transférase [GST], aspartate aminotransférase [AST], alanine aminopeptidase). Il a été démontré que la concentration de tous ces biomarqueurs augmentait avec la durée de l'HMP. Si l'on considère les résultats de l'étude MP-Trial des 6 biomarqueurs analysés à la fin de la procédure de perfusion, seules les concentrations de GST, de N-acétyl- β -D-glucosaminidase et de H-FABP restaient des paramètres indépendants prédictifs de RRF, mais ni de NFP ni de survie du greffon à 1 an (18). Dans une analyse de sous-groupe de cette étude (donneurs âgés

Dossier

de plus de 55 ans), il a été relevé que la quantité de *Lipid Peroxidation Products* (LPOP) à la fin de la procédure était significativement plus élevée en cas de RRF. L'intérêt de la concentration de GST et, en particulier, de l'iso-enzyme π GST (marqueur de souffrance tubulaire distale) a été confirmé par une autre étude où chaque augmentation d'unité Log de concentration de π GST était associée à une augmentation de risque de RRF de 36 % (19).

Plus récemment, de nouveaux marqueurs de souffrance tubulaire (*Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin* [NGAL], IL-18, *Kidney Injury Molecule-1* [KIM-1] et *Liver-type Fatty Acid-Binding Protein* [L-FABP]) ont été analysés dans une cohorte prospective de greffons rénaux, mais ne se sont pas révélés pertinents dans la prédiction de RRF. En revanche, dans cette étude, les concentrations de NGAL et de L-FABP ainsi que les IR en fin de perfusion étaient inversement corrélés à la fonction du greffon à 6 mois (20). Pour les DDACC, les concentrations de LDH et d'IL-18 dans le liquide de perfusion après 4 heures de mise sur machine de perfusion sont corrélées à la NFP, mais leur valeur prédictive est très faible. La quantification par RT-qPCR (*Reverse Transcription-quantitative Polymerase Chain reaction*) de miR-21 (un miARN associé à l'insuffisance rénale aiguë) a été mesurée par RT-qPCR dans les liquides de perfusion d'un petit effectif de greffons issus d'ECD, et a été mis en corrélation avec l'estimation de filtration glomérulaire à 6 et 12 mois après la transplantation (21).

D'autres biomarqueurs de souffrance ischémique à partir des liquides de perfusion des greffons ont été recherchés chez l'homme, par électrophorèse bidimensionnelle, spectrométrie de masse ou résonance magnétique. Une étude suggère que l'augmentation de l' α 1-antitrypsine après 1 heure de perfusion est associée au risque de RRF et une autre met en évidence des profils métaboliques différents entre les greffons qui vont présenter ou non une RRF (concentrations de glucose, de leucine, d'inosine et de gluconate plus faibles) [22]. La résonance magnétique nucléaire semble un outil prometteur pour identifier des métabolites permettant une évaluation fonctionnelle des greffons sur machine de perfusion.

Analyses médico-économiques

Les premières analyses médico-économiques faites à partir d'études non randomisées restent de faible valeur. Leurs résultats suggèrent néanmoins que l'utilisation de l'HMP réduit les coûts de la TR, essentiellement en raison de la diminution de la RRF et que les coûts engendrés par

l'HMP s'équilibrent après 16 mois de transplantation. Une évaluation plus récente de l'étude MP-Trial montre que l'utilisation de l'HMP réduit les coûts lors de la première année de greffe pour tous les types de donneurs, mais que cette réduction est surtout marquée pour les TR réalisées à partir d'ECD et reste minimale pour celles réalisées à partir de DDAC (23). Cette réduction est liée à la diminution du nombre d'échecs, de dialyses et de réhospitalisations. Une extrapolation, grâce à une modélisation de type modèle de Markov, suggère que ce bénéfice persiste à long terme.

Améliorations possibles des techniques de perfusion rénale

Optimisation de la durée et des séquences de préservation

Afin d'éviter les coûts logistiques d'expédition et de retour des machines de perfusion, il peut être intéressant de proposer de placer sur HMP le greffon une fois celui-ci sur le lieu de la TR. Cette proposition est issue d'observations expérimentales faites sur le porc, montrant que, après une préservation par CS pendant 18 heures, un reconditionnement par HMP pendant 1 ou 4 heures était associé à une réduction des IR et à une meilleure fonction rénale après transplantation (24). Les effets bénéfiques de l'HMP semblent donc se mettre en place très rapidement en début de perfusion, permettant de proposer pour obtenir un effet réno-protecteur, qu'une courte période de reperfusion "in house". Ces résultats ne sont néanmoins pas reproduits dans un modèle expérimental de DDAC chez le porc. Chez l'homme, il ne semble pas exister d'étude comparant la perfusion continue avec une perfusion de reconditionnement de fin d'ischémie. Dans les études cliniques, l'HMP est en général utilisée de façon continue et son bénéfice sur le risque de RRF est retrouvé quelles que soient les durées d'IF pour les donneurs à critères standard, mais seulement quand l'IF dépasse 6 heures en cas d'ECD (manque de puissance de l'étude pour les greffons ayant subi moins de 6 heures d'IF) [25]. Malgré cela, aucune preuve n'existe pour affirmer que l'HMP permet de prolonger les délais d'IF et la meilleure stratégie de prévention de la RRF est la réduction de la durée d'IF combinée avec l'utilisation de l'HMP.

Oxygénation

L'hypothermie à 4 °C réduit le métabolisme cellulaire de 90 à 95 %. L'apport d'oxygène est alors à prendre en considération, car il permet d'assurer le métabolisme résiduel à 4 °C, en limitant l'acidose et en préservant les stocks d'adénoside triphosphate (ATP). Dans un modèle

expérimental de DDAC chez le porc, l'oxygénation durant l'HMP induit une diminution des IR, une augmentation du flux et une meilleure fonction rénale après 2 heures de perfusion (26). Après autotransplantation, les greffons rénaux préservés par HMP oxygénée présentent un pic de créatininémie à 15 jours plus bas et des taux inférieurs de marqueurs de lésions rénales (AST, NGAL) que les greffons placés en HMP classique. Différentes techniques d'oxygénation sont utilisées dans les modèles expérimentaux (HMP oxygénées ou persufflation d'oxygène par voie veineuse), montrant, quelles qu'elles soient, une amélioration de la qualité de la préservation rénale par l'apport d'oxygène, la persufflation semblant donner des résultats supérieurs. Une étude randomisée européenne pour évaluer l'oxygénation de l'HMP est en cours (COPE-COMPARE).

Reconditionnement normothermique

En général, la préservation rénale, qu'elle soit statique ou dynamique, a lieu en hypothermie, autour de 4 °C, condition qui crée en soi des lésions tissulaires. La perfusion continue à des températures entre 20 et 30 °C (subnormothermique) a donc été explorée dans des modèles expérimentaux. L'augmentation de la température impose de satisfaire l'augmentation des besoins métaboliques par une oxygénation, une amélioration des liquides de perfusion (apport d'acides aminés, de vitamines) ainsi que l'apport d'héparine et de prostacyclines. Des liquides de perfusion acellulaires utilisant des solutés capables de transporter l'oxygène ont été développés ou sont en développement, comme l'hémoglobine extracellulaire issue de l'annélide marine *Arenicola marina*. La perfusion avec du sang déleucocyté et déplaqueté est aussi possible ; dans ce cas, les techniques mises en œuvre sont proches de la circulation extracorporelle. Dans un modèle porcin de DDAC, la fonction rénale des organes après 7 heures de perfusion oxygénée subnormothermique était significativement meilleure que celle des reins préservés en CS ou même par HMP oxygénée (27). D'autre part, le changement de température brutal lors de la reperfusion crée un dysfonctionnement mitochondrial induisant des lésions tissulaires par activation des voies de l'apoptose. Ces mécanismes lésionnels peuvent être réduits par un réchauffement tissulaire contrôlé (28). Plusieurs études expérimentales ont montré que, avec le reconditionnement normothermique ex vivo (Ex vivo normothermic perfusion [EVNP]), voisin de cette approche, il était possible d'obtenir de bons résultats de quelques heures en fin de préservation à froid dans des modèles d'autotransplantation (29) et de DDACC chez le porc (27). Le premier cas d'utilisation de l'EVNP chez l'homme a été rapporté en 2011 et les

résultats de la première série, par la même équipe en 2013 (30). Dans cette série, les greffons ECD étaient préservés par CS (environ 10 heures d'IF) suivie d'un EVNP durant une heure immédiatement avant la TR. L'EVNP réduisait de façon significative le RRF (5,6 versus 36,2% ; $p = 0,014$) sans pouvoir montrer dans cette petite série de diminution du taux de rejet ou d'amélioration de la survie par rapport à un groupe contrôle traité par CS. Une étude contrôlée est en cours pour évaluer l'apport de 60 minutes d'EVNP après une période de CS pour des donneurs de type M3. De plus, dans cette première étude, les 3 greffons présentant des IR très élevés ($> 0,7$ mmHg/ml/100 g) ont tous été fonctionnels d'emblée après conditionnement par EVNP, ce qui suggère que l'EVNP pourrait requalifier certains des greffons prélevés chez des DDAC et récusés sur des critères de très mauvaise vascularisation. La faisabilité de cette hypothèse a été soutenue par un premier essai sur une paire de greffons (amélioration de l'aspect du greffon, des paramètres de perfusion et reprise de la diurèse lors de la perfusion, puis par la TR réussie d'une autre paire de greffons de DDAC récusés (31). L'avantage de cette technique est de permettre d'évaluer l'aspect macroscopique et la fonction du greffon. Un score incluant l'apparence macroscopique et les seuils de débit de perfusion et de volumes d'urines émises durant l'EVNP permettrait de proposer à nouveau ces greffons initialement récusés (32). Un essai multicentrique devrait pouvoir confirmer l'intérêt de cette technique.

Conclusion

La qualité de la préservation rénale a toujours été importante pour l'issue de la TR, mais revient actuellement au premier plan en raison de l'augmentation du nombre de donneurs à risque (ECD et DDAC). Les limites de la conservation statique semblent être atteintes, et plus d'efforts doivent être portés pour limiter la durée d'IF et les lésions d'ischémie-reperfusion. L'utilisation des machines de perfusion (HMP) facilite la reprise de fonction du greffon rénal, et son impact en termes de survie du greffon est démontré dans les cas d'ECD. Cette technique devrait donc s'implanter dans les mois et années à venir à la place de la conservation statique pour les donneurs dits à risque. De nouvelles techniques de préservation dynamique semblent actuellement très prometteuses ouvrant des voies de recherche très importantes afin de pouvoir mieux évaluer, optimiser et même, éventuellement, réparer les greffons rénaux. ■

L'auteur déclare de pas avoir de liens d'intérêts.

Références bibliographiques

1. Port FK, Bragg-Gresham JL, Metzger RA et al. Donor characteristics associated with reduced graft survival: an approach to expanding the pool of kidney donors. *Transplantation* 2002;74(12):1281-6.
2. Yarlagadda SG, Coca SG, Formica RN Jr, Poggio ED, Parikh CR. Association between delayed graft function and allograft and patient survival: a systematic review and meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24(3):1039-47.
3. Dehout A, Foucher Y, Trébern-Launay K et al. Each additional hour of cold ischemia time significantly increases the risk of graft failure and mortality following renal transplantation. *Kidney Int* 2015;87(2):343-9.
4. Fuller BJ, Lee CY. Hypothermic perfusion preservation: the future of organ preservation revisited? *Cryobiology* 2007;54(2):129-45.
5. Moers C, Smits JM, Maathuis MH et al. Machine perfusion or cold storage in deceased-donor kidney transplantation. *N Engl J Med* 2009;360(1):7-19.
6. Tozzi M, Franchin M, Soldini G et al. Impact of static cold storage VS hypothermic machine preservation on ischemic kidney graft: inflammatory cytokines and adhesion molecules as markers of ischemia/reperfusion tissue damage. Our preliminary results. *Int J Surg* 2013;11(Suppl. 1):S110-4.
7. Chatauret N, Coudroy R, Delpech PO et al. Mechanistic analysis of nonoxygenated hypothermic machine perfusion's protection on warm ischemic kidney uncovers greater eNOS phosphorylation and vasodilation. *Am J Transplant* 2014;14(11):2500-14.
8. Wszola M, Kwiatkowski A, Diuwe P et al. One-year results of a prospective, randomized trial comparing two machine perfusion devices used for kidney preservation. *Transpl Int* 2013;26(11):1088-96.

 Retrouvez l'intégralité des références bibliographiques sur www.edimark.fr

Références bibliographiques (suite page 155)

9. Moers C, Pirenne J, Paul A, Ploeg RJ; Machine Preservation Trial Study Group. Machine perfusion or cold storage in deceased-donor kidney transplantation. *N Engl J Med* 2012;366(8):770-1.
10. O'Callaghan JM, Morgan RD, Knight SR, Morris PJ. Systematic review and meta-analysis of hypothermic machine perfusion versus static cold storage of kidney allografts on transplant outcomes. *Br J Surg* 2013;100(8):991-1001.
11. Gallinat A, Moers C, Smits JM et al. Machine perfusion versus static cold storage in expanded criteria donor kidney transplantation: 3-year follow-up data. *Transpl Int* 2013;26(6):E52-3.
12. Jiao B, Liu S, Liu H, Cheng D, Cheng Y, Liu Y. Hypothermic machine perfusion reduces delayed graft function and improves one-year graft survival of kidneys from expanded criteria donors: a meta-analysis. *PLoS One* 2013;8(12):e81826.
13. Jochmans I, Moers C, Smits JM et al. Machine perfusion versus cold storage for the preservation of kidneys donated after cardiac death: a multicenter, randomized, controlled trial. *Ann Surg* 2010;252(5):756-64.
14. Watson CJ, Wells AC, Roberts RJ et al. Cold machine perfusion versus static cold storage of kidneys donated after cardiac death: a UK multicenter randomized controlled trial. *Am J Transplant* 2010;10(9):1991-9.
15. Mozes MF, Skolek RB, Korf BC. Use of perfusion parameters in predicting outcomes of machine-preserved kidneys. *Transplant Proc* 2005;37(1):350-1.
16. Jochmans I, Moers C, Smits JM et al. The prognostic value of renal resistance during hypothermic machine perfusion of deceased donor kidneys. *Am J Transplant* 2011;11(10):2214-20.
17. de Vries EE, Hoogland ER, Winkens B, Snoeijs MG, van Heurn LW. Renovascular resistance of machine-perfused DCD kidneys is associated with primary nonfunction. *Am J Transplant* 2011;11(12):2685-91.
18. Moers C, Varnav OC, van Heurn E et al. The value of machine perfusion perfusate biomarkers for predicting kidney transplant outcome. *Transplantation* 2010;90(9):966-73.
19. Hall IE, Bhangoo RS, Reese PP et al. Glutathione S-transferase iso-enzymes in perfusate from pumped kidneys are associated with delayed graft function. *Am J Transplant* 2014;14(4):886-96.
20. Parikh CR, Hall IE, Bhangoo RS et al. Associations of Perfusate Biomarkers and Pump Parameters With Delayed Graft Function and Deceased Donor Kidney Allograft Function. *Am J Transplant* 2016;16(5):1526-39.
21. Khalid U, Ablorsu E, Szabo L et al. MicroRNA-21 (miR-21) expression in hypothermic machine perfusate may be predictive of early outcomes in kidney transplantation. *Clin Transplant* 2016;30(2):99-104.
22. Guy AJ, Nath J, Cobbold M et al. Metabolomic analysis of perfusate during hypothermic machine perfusion of human cadaveric kidneys. *Transplantation* 2015;99(4):754-9.
23. Groen H, Moers C, Smits JM et al. Cost-effectiveness of hypothermic machine preservation versus static cold storage in renal transplantation. *Am J Transplant* 2012;12(7):1824-30.
24. Gallinat A, Efferz P, Paul A, Minor T. One or 4 h of "in-house" reconditioning by machine perfusion after cold storage improve reperfusion parameters in porcine kidneys. *Transpl Int* 2014;27(11):1214-9.
25. Gill J, Dong J, Eng M, Landsberg D, Gill JS. Pulsatile perfusion reduces the risk of delayed graft function in deceased donor kidney transplants, irrespective of donor type and cold ischemic time. *Transplantation* 2014;97(6):668-74.
26. Hoyer DP, Gallinat A, Swoboda S et al. Influence of oxygen concentration during hypothermic machine perfusion on porcine kidneys from donation after circulatory death. *Transplantation* 2014;98(9):944-50.
27. Hoyer DP, Gallinat A, Swoboda S, et al. Subnormothermic machine perfusion for preservation of porcine kidneys in a donation after circulatory death model. *Transpl Int* 2014;27(10):1097-106.
28. Schopp I, Reissberg E, Luer B, Efferz P, Minor T. Controlled Rewarming after Hypothermia: Adding a New Principle to Renal Preservation. *Clin Transl Sci* 2015;8(5):475-8.
29. Hosgood SA, Barlow AD, Yates PJ, Snoeijs MG, van Heurn EL, Nicholson ML. A pilot study assessing the feasibility of a short period of normothermic preservation in an experimental model of non heart beating donor kidneys. *J Surg Res Nov* 2011;171(1):283-90.
30. Nicholson ML, Hosgood SA. Renal transplantation after ex vivo normothermic perfusion: the first clinical study. *Am J Transplant* 2013;13(5):1246-52.
31. Hosgood SA, Saeb-Parsy K, Hamed MO, Nicholson ML. Successful Transplantation of Human Kidneys Deemed Untransplantable but Resuscitated by Ex Vivo Normothermic Machine Perfusion. *Am J Transplant* 2016. Epub ahead of print.
32. Hosgood SA, Barlow AD, Dormer J, Nicholson ML. The use of ex-vivo normothermic perfusion for the resuscitation and assessment of human kidneys discarded because of inadequate in situ perfusion. *J Transl Med* 2015;13:329.