

## AOR "Recherche et Greffe"

### Résumés et résultats

2006 - 2023

Cliquer sur les titres pour accéder au détail des projets

Nom et institution	Titre	Année AOR
FERRERA René - INSERM EMI-U226 -Lyon	<a href="#">Méthodes originales de protection du greffon cardiaque après ischémie froide : la basse pression de reperfusion et le postconditionnement.</a>	2006
THABUT Gabriel - Hôpital BICHAT - APHP	<a href="#">Etude PILOT: Preserving in Lung Transplantation</a>	2006
FERRERA René - INSERM U886 - Lyon	<a href="#">Mise au point d'un système original de préservation par perfusion pulsatile hydrothermique des greffons avant transplantation</a>	2007
LEMARCHAND Patricia - INSERM U533 - NANTES	<a href="#">Thérapie cellulaire cardiaque par injection intra-myocardique de cellules souches mésenchymateuses : études pré-cliniques</a>	2007
DANNER-BOUCHER Isabelle - INSERM	<a href="#">Mécanismes immunopathologiques de stabilisation de la bronchiolite oblitérante après transplantation pulmonaire</a>	2008
KALFA David - INSERM	<a href="#">Remplacement de la voie de sortie du cœur droit par un patch biodégradable valve, utilisant des cellules autologues de cordon ombilical</a>	2008
LANSAC Emmanuel - INSERM	<a href="#">Reconstruction valvulaire en péricarde autologue : une alternative plus physiologique au remplacement valvulaire aortique du sujet jeune</a>	2008
MASSARD Gilbert - CHU de Strasbourg	<a href="#">Préservation pulmonaire in situ par perfusion pulmonaire à cœur arrêté : Evaluation de la faisabilité chez le porc</a>	2008
AGBULUT Onnik - CNRS EAC 4413 - Université Paris Diderot	<a href="#">Thérapie cellulaire cardiaque : Utilisation de feuilles de cellules souches dans le traitement des cardiopathies non-ischémiques</a>	2010
BAROUKI Robert - Biochimie, Necker, APHP	<a href="#">Diagnostic biologique du rejet après transplantation cardiaque dans la cohorte multicentrique française CALCICOEUR</a>	2010
FERRERA René - INSERM U886 - Lyon	<a href="#">Transplantation orthotopique expérimentale de cœurs prélevés arrêtés. Intérêt du post-conditionnement au moment de la reperfusion</a>	2010
BRIOT Raphaël - IMAG, CHU de Grenoble	<a href="#">Intérêt du monoxyde de carbone comme marqueur des lésions d'ischémie-reperfusion de poumons reconditionnés ex vivo</a>	2011

Nom et institution	Titre	Année AOR
ISNARD Richard - Pitié-Salpêtrière - APHP	<a href="#">Administration de cellules souches mesenchymateuses dans le traitement de la maladie du greffon chez le transplanté cardiaque – Suivi immunologique</a>	2011
KALFA David - INSERM U633	<a href="#">Reconstruction de la voie de sortie du ventricule droit par un tube valve bioresorbable cellularisé autologue</a>	2011
SANTELMO Nicolas - CHU de Strasbourg	<a href="#">Préservation et évaluation pulmonaire in situ par perfusion froide percutanée dans le cadre du prélèvement d'organes à cœur arrêté : Évaluation de la faisabilité chez le porc.</a>	2011
BRUNEVAL Patrick - HEGP-APHP	<a href="#">Rejet humoral infraclinique en transplantation cardiaque : incidence et relation avec la maladie vasculaire du greffon</a>	2012
FERRERA René - INSERM ADR 5	<a href="#">Amélioration de la préservation des greffons cardiaques avant transplantation par l'utilisation d'un nouveau procédé de perfusion par perfusion pulsatile hypothermique</a>	2012
ANGOULVANT Denis - Université de Tours	<a href="#">Rôle des récepteurs purinergiques dans l'activation des cellules dendritiques au cours des lésions d'ischémie reperfusion du greffon cardiaque (CardioDC)</a>	2013
ROUAS-FREISS Nathalie - CEA	<a href="#">Rôle immunomodulateur de la cellule épithéliale bronchique sur la réponse allogénique T chez des patients greffés pulmonaires</a>	2013
TAUPIN Jean-Luc - CHU de Bordeaux	<a href="#">Détection in situ d'anticorps allogéniques anti-HLA spécifiques du donneur chez les transplantés cardiaques ou pulmonaires</a>	2013
PORCHER Raphaël - Centre d'Epidémiologie clinique, CHU de Nantes	<a href="#">Evaluation du bénéfice de la transplantation pulmonaire sur la survie et facteurs associés à ce bénéfice</a>	2014
SAGE Edouard - Hôpital Foch	<a href="#">Poursuite de l'Etude pilote de la transplantation de greffons pulmonaires réhabilités en ex vivo</a>	2014
SAUCE Delphine - INSERM	<a href="#">Etude de l'immunité Natural Killer au cours des infections à CMV après transplantation pulmonaire</a>	2014
CHARREAU Béatrice - ITUN - INSERM U1064 - CHU de Nantes	<a href="#">Définition et contrôle de l'inflammation microvasculaire au cours du rejet aigu tumoral en transplantation cardiaque : nouvelles cibles cellulaires et moléculaires</a>	2015
TAUPIN Jean-Luc - CNRS UMR 5164, Bordeaux	<a href="#">Anticorps anti-HLA de classe II spécifiques du donneur d'organe : détection et rôle pathogène de HLA-DQ</a>	2015
VILQUIN Jean-Thomas - Institut de Myologie - Paris	<a href="#">Thérapie cellulaire cardiaque : capacités cardiogéniques de cellules progénitrices exprimant l'Aldéhyde Déhydrogénase</a>	2015
DUONG VAN HUYEN Jean-Paul - Ana-Path, Necker - APHP	<a href="#">Grading de l'inflammation microvasculaire au cours du rejet humoral pour le suivi du patient transplanté cardiaque: validation moléculaire et étude de reproductibilité</a>	2016

Nom et institution	Titre	Année AOR
FERRERA René - INSERM UMR1060 CARMEN Lyon	<a href="#">Evaluation et amélioration de la qualité de préservation du greffon cardiaque avant transplantation</a>	2017
HIRSCHI Sandrine - Pneumologie CHU de Strasbourg	<a href="#">Intérêt diagnostique et pronostique de la présence d'anticorps spécifiques du donneur intra-greffon dans le rejet humoral en transplantation pulmonaire</a>	2017
MORDANT Pierre - INSERM U1152, Bichat, APHP	<a href="#">Intérêt d'un protocole de soins intensifs pour prolonger la perfusion ex vivo des greffons pulmonaires et développer des stratégies thérapeutiques innovantes</a>	2017
VISENTIN Jonathan - UMR CNRS5164 Bordeaux	<a href="#">Impact clinique de la concentration et de l'affinité des anticorps anti-HLA DQ dirigés contre le donneur en transplantation pulmonaire</a>	2017
TISSOT Adrien - ITUN - INSERM U1064	<a href="#">Etude de la transglutaminase 2 dans la dysfonction chronique du greffon pulmonaire</a>	2018
TRAN DINH Alexy - INSERM U1148 - APHP	<a href="#">Rôle du CD31 dans la dysfonction primaire du greffon après transplantation pulmonaire</a>	2018
GUIHAIRE Julien - Recherche et Innovation - Marie Lannelongue	<a href="#">Evaluation de la viabilité des greffons cardiaques prélevés sur donneur décédé après arrêt circulatoire contrôlé (Maastricht 3)</a>	2020
KESSLER Romain - INSERM UMR1260 - Strasbourg	<a href="#">Microvésicules membranaires circulantes et alvéolaires dans la dysfonction chronique du greffon pulmonaire. Etude MIBO.</a>	2020
SAGE Edouard - Chirurgie thoracique - FOCH	<a href="#">Stabilisation de l'équilibre hydroélectrolytique par dialyse continue pendant une perfusion pulmonaire ex-vivo longue durée dans un modèle porc.</a>	2020
DI CRISTOFARO Julie - EFS-PACA	<a href="#">Antigènes de l'épithélium bronchique : polymorphismes et immunisation des patients transplantés pulmonaires</a>	2021
SAGE Edouard - Hôpital Foch - Suresnes	<a href="#">Ventilation du greffon pulmonaire en pression négative dynamique lors des procédures de perfusion ex-vivo avant transplantation.</a>	2021
PICARD Christophe - Laboratoire HLA - EFS PACA Corse	<a href="#">Identification de nouveaux marqueurs épigénétiques de dépistage de rejet aigu en transplantation pulmonaire</a>	2022
ROUX Antoine - Hôpital Foch - Suresnes	<a href="#">COLT –LS : Etude des patients transplantés pulmonaires ayant atteint les 10 ans de suivi post-greffe de la cohorte COLT</a>	2022
GUIHAIRE Julien - Recherche Préclinique - Marie Lannelongue	<a href="#">Thérapie métabolique cardioprotectrice par le nicotinamide riboside en transplantation</a>	2023
LEBRETON Guillaume - UMR-S 1166 - Pitié Salpêtrière	<a href="#">MANDRAGORE : Modèle d'évaluation multimodal (IRM et métabolique) des Greffons cardiaque En transplantation</a>	2023

Année: 2006

## Méthodes originales de protection du greffon cardiaque après ischémie froide : la basse pression de reperfusion et le postconditionnement.

FERRERA René - Faculté de médecine Lyon Nord, INSERM EMI-U226, LYON

[Retour tableau](#)

### Résumé

Problématique et objectif : Le manque crucial d'organes est responsable de la première cause de mortalité en transplantation cardiaque. Un certain nombre de greffons humains sont malheureusement perdus car lésés avant la transplantation. En effet, à partir du stade de mort cérébrale jusqu'à la reperfusion, en passant par les différentes phases de cardioplégie, prélèvement et transport hypothermique, les greffons cardiaques (mais il en est de même pour le rein, le poumon ou le foie) subissent des altérations en particulier ischémiques. La question que nous nous posons est la suivante : Est-il possible d'agir sur la protection du cœur non pas avant l'ischémie (comme dans le cas du préconditionnement) mais après, à l'initiation de la reperfusion ?

Notre objectif est donc d'évaluer expérimentalement et, pour la première fois après ischémie froide, la faisabilité de 2 méthodes de protections : le post-conditionnement (POST) et la basse pression de reperfusion (BPR). Ces méthodes (validées récemment pour leur efficacité après ischémie chaude) à seront donc appliquées après cardioplégie et ischémie froide prolongée.

Etapes du projet : Phase 1 : Etude expérimentale du POST et la BPR. Evaluations fonctionnelles et mesures de la nécrose des cœurs soumis à 8 et 12 heures d'ischémie froide. Phase 2 : recherche des mécanismes moléculaires soutenant cette protection au niveau de la mitochondrie (analyse des radicaux libres, du pore de transition...). Phase 3 : confirmation des résultats des phases 1 et 2, par l'étude sur cœurs entiers battant, des mécanismes de protection (méthode originale de mesure par sonde optique fluorescente des paramètres électrophysiologiques et métaboliques du cœur).

Intérêt scientifique et clinique : La compréhension des mécanismes cellulaires et moléculaires mis en jeu au cours de la protection à la reperfusion est fondamentale. De plus, il peut s'opérer un changement conceptuel dans la prise en charge des organes ischémiques : l'ischémie ne serait pas ou peu délétère, c'est à la première minute de reperfusion que tout se jouerait ! A terme l'application de ces procédures à la clinique humaine permettrait de prolonger le temps de conservation du cœur (mais peut-être aussi des autres organes) au-delà des 4-6 heures habituelles. Ces procédures de protection permettraient ainsi de sortir du cadre actuel de l'urgence tout en assurant un transport sur de longues distances, au mois à l'échelle européenne.

### Résultats

Bopassa, J. C., C. Nemlin, L. Sebbag, C. Rodriguez, M. Ovize, et R. Ferrera. 2007. « Optimal Time Duration for Low-Pressure Controlled Reperfusion to Efficiently Protect Ischemic Rat Heart ». *Transplantation Proceedings* 39 (8): 2615-16.

[Retour tableau](#)

**Année: 2006**

## Etude PILOT: Preservating in Lung Transplantation

**THABUT Gabriel** - Hôpital Bichat, 75018 PARIS

[Retour tableau](#)

### Résumé

La principale complication dans les suites immédiates de la transplantation pulmonaire est la survenue d'une dysfonction primaire du greffon, grevée d'une morbidité et d'une mortalité importantes. Le développement de nouveaux liquides de préservation devrait permettre une diminution de l'incidence de cette complication et une amélioration des résultats de la transplantation pulmonaire, en dépit d'arguments expérimentaux encourageants, le Perfadex® utilisé de plus en plus largement en transplantation pulmonaire n'a pas fait l'objet d'une évaluation rigoureuse. L'objectif principal de l'essai est d'évaluer si l'utilisation du Perfadex® permet de diminuer l'incidence de la dysfonction primaire du greffon chez les patients bénéficiant d'une transplantation pulmonaire, comparé au liquide de Celsior® actuellement utilisé. Il s'agit d'une étude prospective, multi-centrique, randomisée en double aveugle. Les critères d'inclusion sont les suivants : patient adulte, bénéficiant d'une transplantation mono ou bipulmonaire. Le traitement à l'étude est le Perfadex®, le traitement de référence est le Celsior®. La période d'inclusion est de deux ans, les patients seront suivis pendant 1 an. Durée totale de l'étude : 3 ans. Critère principal : survenue d'une dysfonction primaire du greffon dans les 3 premiers jours suivant la transplantation pulmonaire. Nombre de sujets : 55 patients dans chaque groupe soit 110 patients en tout. Analyse statistique : les pourcentages de survenue de dysfonction primaire du greffon seront comparés par le test chi-2. Résultats attendus : une réduction de 50 % en valeur réactive de l'incidence des dysfonctions primaires du greffon est attendue dans le groupe recevant le Perfadex® comparé à celui recevant du Celsior®.

[Retour tableau](#)

**Année: 2007**

## Mise au point d'un système original de préservation par perfusion pulsatile hydrothermique des greffons avant transplantation

**FERRERA René** - INSERM U886

Laboratoire de Physiologie

Faculté de Médecine Lyon Nord

[Retour tableau](#)

### Résumé

#### Problématique

Deux problèmes majeurs et intimement liés, limitent toujours l'expansion des transplantations cardiaques :

1- la pénurie des greffons. Le manque crucial d'organe est responsable de la première cause de mortalité en transplantation cardiaque : ceux qui décèdent avant la transplantation faute de greffons, soit 10 à 20% des malades proposés selon les séries.

2- la limitation du temps de préservation hypothermique des greffons. La durée de préservation par immersion hypothermique du greffon cardiaque est extrêmement courte: 4-6 heures. Prolonger ce temps de conservation permettrait de transporter les greffons sur de longues distances, au moins à l'échelle européenne, augmentant ainsi le pool de donneurs potentiels, en laissant le temps pour évaluer la viabilité de l'organe, tout en sortant du cadre actuel de l'urgence.

#### Objectifs de l'étude

Notre équipe envisage de répondre aux 2 questions suivantes :

- Peut-on optimiser la protection du greffon cardiaque par l'utilisation d'une nouvelle méthode de perfusion pulsatile hypothermique et d'un soluté de conservation enrichi ?
- Les résistances vasculaires coronaires sont-elles de bons témoins de l'état de viabilité du greffon? Sont-elles bien corrélées avec d'autres indices de viabilité ?

#### Etapas du projet

- Réalisation d'un nouveau prototype optimisé pour le transport et l'évaluation des greffons cardiaques.
- Ce système original associé que notre soluté de perfusion sera ensuite testé sur un modèle in vitro de cœur isolé (modèle Langendorff) avant d'être validé par des transplantations cardiaques expérimentales.

#### Résultats attendus

A terme, l'application de ces procédures à la clinique humaine permettrait de :

- Prolonger le temps de conservation du cœur (mais peut-être aussi des autres organes) au-delà des 4-6 heures habituelles.
- D'utiliser des cœurs prélevés non battant en optimisant leur protection grâce à la perfusion pulsatile hypothermique, tout en les évaluant en temps réel pendant le transport.

Ces procédures de protection assureraient un transport sur de longues distances et permettraient d'augmenter le pool de greffons cardiaques.

[Retour tableau](#)

Année: 2007

## Thérapie cellulaire cardiaque par injection intra-myocardique de cellules souches mésenchymateuses : études pré-cliniques

**LEMARCHAND Patricia** - Institut du thorax

INSERM U533

NANTES

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'augmentation d'incidence de l'insuffisance cardiaque ischémique est un défi majeur des années à venir. En dépit des progrès importants accomplis dans le domaine de la cardiologie interventionnelle et de la pharmacologie, de nombreux patients évoluent encore inexorablement vers l'insuffisance cardiaque. La possibilité de traiter l'insuffisance cardiaque en régénérant le tissu cardiaque et vasculaire offre une nouvelle perspective, ouverte par la thérapie cellulaire cardiaque. Les cellules souches mésenchymateuses (CSM) sont des cellules souches médullaires qui pourraient se différencier en cardiomyocytes ou en cellules endothéliales. Leur action peut également s'exercer grâce aux facteurs trophiques qu'elles sécrètent. Un seul essai clinique d'administration de CSM après infarctus du myocarde a été publié. Dans cet essai randomisé (placebo vs CSM intra-coronaire), les patients ayant reçus des CSM ont eu une amélioration de la fraction d'éjection et une diminution de la taille de l'infarctus au PET-scan, sans mortalité ou morbidité supplémentaires. Toutefois, de nombreuses questions restent posées : 1- l'optimisation des techniques de culture pour une utilisation intra-tissulaire cardiaque, 2- la démonstration de l'absence de risque de troubles du rythme cardiaques après injection des CSM in vivo, 3- la biodistribution des CSM après injection percutanée endocavitaire. Notre projet a pour but de déterminer les caractéristiques optimales des CSM afin de les utiliser comme source de cellules souches fiable, standardisée et sûre pour la thérapie cellulaire cardiaque. Pour cela nous étudierons les caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles des CSM de patients cardiaques potentiellement greffables. Nous évaluerons les risques de troubles du rythme liés au devenir des cellules implantées. Enfin, après avoir établi un protocole optimisé de culture et d'implantation des CSM, nous le validerons dans un modèle de gros animal. L'ensemble de ces études pré-cliniques nous permettra d'obtenir l'autorisation auprès des autorités de régulation et de réaliser des essais cliniques de phase I dans des conditions optimales (essai MESAMI en préparation).

### Résultats

Forest, Virginie F., Ashok M. Tirouvanziam, Christian Perigaud, Sarah Fernandes, Marion S. Fusellier, Jean-Claude Desfontis, Claire S. Toquet, Marie-Françoise M. Heymann, Dominique P. Crochet, et Patricia F. Lemarchand. 2010. « Cell distribution after intracoronary bone marrow stem cell delivery in damaged and undamaged myocardium: implications for clinical trials ». Stem cell research & therapy 1 (1): 4.

[Retour tableau](#)

Année: 2008

## Mécanismes immunopathologiques de stabilisation de la bronchiolite oblitérante après transplantation pulmonaire

**DANNER-BOUCHER Isabelle** - Inserm

[Retour tableau](#)

### Résumé

La bronchiolite oblitérante (BO) constitue la principale cause à moyen et long terme de perte fonctionnelle du greffon pulmonaire. Elle se manifeste par l'apparition d'un trouble ventilatoire obstructif (TVO) irréversible. Cependant il n'est pas rare d'observer un arrêt de la dégradation fonctionnelle à un stade plus ou moins avancé dans le cours évolutif de la maladie. L'activation des lymphocytes T régulateurs (Treg) joue probablement un rôle central dans ce processus.

L'objectif de ce projet est de montrer que les BO stables sont caractérisées par un phénotype Th2 et régulateur, et que l'acquisition de ce phénotype précède la survenue du trouble ventilatoire obstructif. De plus, on s'attend à montrer que l'interaction DC/LT des BO stables est de type « tolérant » par rapport à celle retrouvée dans les BO évolutives, notamment dans des conditions de stimulation des récepteurs TOLL et en présence d'antigène. Il en découlera l'identification de marqueurs immunologiques prédictifs de la stabilisation des BO, et prédictifs de la survenue d'une BO chez les transplantés sans complication. L'identification de ces marqueurs pourrait permettre la mise en place de stratégie de prévention de la BO, ou d'induction d'une stabilisation chez les patients porteurs de BO évolutive.

Méthodologie : Des patients transplantés pulmonaires à Marseille et à Nantes seront inclus. Une étude transversale comparera entre eux les transplantés indemnes de toute complication, les BO évolutives et les BO stables. Une étude longitudinale sera menée sur deux ans, permettant d'établir la précocité de l'activation lymphocytaire T caractéristique de la BO et celle caractéristique de la BO stable. L'activation lymphocytaire T sera étudiée dans le sang par la présence de marqueurs de surface (CD25, CD69, ICOS, CTLA4, CD28), la production de cytokines (Il-13, IFN- $\gamma$ , Il-10) et l'expression de Foxp3. L'interaction entre les cellules dendritiques et les lymphocytes T sera par ailleurs étudiée dans différentes conditions (activation des TLRs et présence d'antigènes).

[Retour tableau](#)



Année: 2008

## Remplacement de la voie de sortie du cœur droit par un patch biodégradable valve, utilisant des cellules autologues de cordon ombilical

KALFA David - Inserm

[Retour tableau](#)

### Résumé

Les moyens actuellement disponibles et utilisés en pratique clinique pour la réparation chirurgicale des cardiopathies congénitales sont des matériaux inertes ne présentant aucun potentiel de croissance ni de régénération et conduisant à des reprises chirurgicales multiples. Notre projet de recherche consiste à remplacer une partie de la voie de sortie du cœur droit chez l'agneau en croissance par un patch biodégradable transannulaire valvé obtenu par ingénierie tissulaire avec ensemencement de cellules souches autologues de sang de cordon ombilical prélevées chez le même agneau à sa naissance.

Notre objectif principal est d'évaluer :

- 1) la survie et la différenciation in vivo des cellules souches autologues de cordon ombilical soumises aux conditions de flux artériel pulmonaire
- 2) la croissance in vivo de cette néo-voie de sortie du cœur droit chez l'agneau en croissance.

Les méthodes seront les suivantes : les sangs de cordon ombilical d'agneaux seront prélevés par ponction de la veine ombilicale par césarienne. Les cellules souches mésenchymateuses et cellules progénitrices endothéliales issues du sang de cordon seront isolées, cultivées, caractérisées (FACS), marquées (quantum dots), puis ensemencées sur des patchs valvés résorbables qui seront implantés chez 9 agneaux (groupe test). Cinq animaux recevant un patch de péricarde autologue avec monovalve de gore-tex constitueront le groupe témoin. Les voies de sortie droite et la fonction valvulaire pulmonaire des animaux test et témoins seront évaluées par échographie cardiaque et IRM.

Les animaux seront sacrifiés 1, 2, 3, 4 et 5 mois après l'implantation des patchs. L'étude des patchs implantés et non implantés sera macroscopique (mesure de la croissance), histologique (éosinehématoxyline, Masson trichrome, rouge sirius, repérage des cellules marquées par quantum dots) et immunohistochimique (phénotypage cellulaire anti- $\alpha$ -SMA, -CD31, -vimentine et -myosine).

Les résultats attendus sont :

- 1) la survie et la différenciation des cellules souches de sang de cordon ombilical en cellules endothéliales et /ou musculaires lisses et/ou myocardiques, différenciation guidée par le microenvironnement cellulaire avoisinant ;
- 2) la synthèse par ces cellules d'une matrice extra-cellulaire comparable aux tissus natifs d'artère pulmonaire et d'infundibulum pulmonaire et la disparition du polymère biodégradable ;
- 3) la croissance et la fonctionnalité de ce patch valvé chez ce modèle d'animal en croissance. L'une des perspectives à terme est la restitution ad integrum d'une néo voie de sortie droite (infundibulum pulmonaire et artère proximale), vivante, autologue, fonctionnelle, douée d'un potentiel de croissance, évitant ainsi la morbidité et la mortalité majeures inhérentes à la chirurgie actuelle. De plus, les cellules de sang de cordon ombilical constitueraient une source immédiate et non invasive de cellules souches autologues disponibles dès la naissance, chez un enfant atteint de cardiopathie congénitale diagnostiquée en période anténatale, pouvant être utilisées pour la réparation de sa propre cardiopathie.

## Résultats

Kalfa, David, Alain Bel, Annabel Chen-Tournoux, Alberto Della Martina, Philippe Rochereau, Cyrielle Coz, Valérie Bellamy, et al. 2010. « A polydioxanone electrospun valved patch to replace the right ventricular outflow tract in a growing lamb model ». Biomaterials 31 (14): 4056-63.

[Retour tableau](#)

Année: 2008

## Reconstruction valvulaire en péricarde autologue : une alternative plus physiologique au remplacement valvulaire aortique du sujet jeune

LANSAC Emmanuel - INSERM

[Retour tableau](#)

### Résumé

Objectifs : Le traitement actuel des valvulopathies aortiques non réparables du sujet jeune repose sur les valves prothétiques et les homogreffes. Les valves mécaniques sont théoriquement définitives, mais requièrent une anticoagulation efficace, exposant aux risques thromboemboliques et hémorragiques. Les bioprothèses ne nécessitent pas d'anticoagulation mais ont une durée de vie limitée, leur usure est d'autant plus rapide qu'elles sont implantées précocement. Les homogreffes sont peu disponibles et exposées à une dégénérescence rapide par mécanisme de rejet lié à l'absence de traitement immunosuppresseur. Le concept du remplacement valvulaire en péricarde autologue représente théoriquement une alternative intéressante aux bioprothèses actuelles en termes d'immunocompatibilité, de disponibilité, de durabilité ainsi que son faible coût. Le péricarde autologue est le plus souvent traité au glutaraldehyde qui améliore sa maniabilité chirurgicale et diminue les risques de rétraction. Cependant par son action cytotoxique, il l'expose aux mêmes risques de dégénérescence que les bioprothèses. Notre projet propose de trouver une alternative au glutaraldehyde conférant au péricarde autologue une meilleure viabilité tissulaire à long terme en limitant son risque de fibrose rétractile. Les objectifs sont : (1) d'élaborer in vitro de nouveaux modes de préparation du péricarde autologue réalisables en extemporanée d'une durée compatible avec les impératifs opératoires ( $\leq 15$  minutes), (2) d'évaluer ces néo-valves in vivo sur un modèle ovin en position orthotopique

Méthodologie : La première partie du projet sera consacrée à l'élaboration in vitro de nouveaux modes de traitement du péricarde autologue (solution de conservation et technique de décellularisation rapide). Ces traitements seront évalués par techniques de cultures cellulaires, études biomécaniques et morphologiques (histologie, immunohistologie ...) sur 4 groupes expérimentaux (péricarde autologue frais, ou decellularisé aux ultrasons puis stabilisé à l'éthanol ou imprégné au LMW Fucoïdane, ou traité au glutaraldehyde (groupe témoin)).

La deuxième partie concerne l'évaluation in vivo de la néo-valve aortique en péricarde autologue sur un modèle ovin. Trois groupes de 6 moutons seront opérés d'un remplacement valvulaire en péricarde autologue, traité selon les résultats obtenus in vitro (péricarde autologue frais prétraité ou non au LMW Fucoïdan, ou decellularisé ou traité au glutaraldehyde (groupe témoin)). La moitié des animaux seront sacrifiés à 6 mois, l'autre à 1 an. L'efficacité sera évaluée in vivo (échocardiographie intra cardiaque), et in vitro (analyse histologique et immunohistochimique).

Résultats attendus :

Une standardisation des techniques de traitement du péricarde autologue permettant de préserver sa viabilité à long terme ainsi que des procédures chirurgicales de fabrication de la néo-valve aortique sur un modèle expérimental constitue le préalable indispensable à une étude clinique. Celle-ci pourrait comparer le remplacement valvulaire en péricarde autologue aux bioprothèses actuelles. Le péricarde autologue pourrait être une alternative particulièrement intéressante pour le traitement des valvulopathies aortiques non réparables du sujet jeune et dans les pays à forte endémie rhumatismale, où le traitement anticoagulant reste difficilement gérable.

## Résultats

BA, Maguette. s. d. « Reconstruction valvulaire aortique : Mise au point d'une prothèse en péricarde autologue prétraitée par un hydrogel de polysaccharide ».

[Retour tableau](#)

Année: 2008

## Préservation pulmonaire in situ par perfusion pulmonaire à cœur arrêté : Evaluation de la faisabilité chez le porc

MASSARD Gilbert - CHU Strasbourg

[Retour tableau](#)

### Résumé

Le prélèvement pulmonaire à cœur arrêté est en train de se concrétiser en France en ce qui concerne la greffe de reins. Différentes expériences ont été tentées en Europe dans le domaine de la transplantation pulmonaire, notamment en Espagne, Suède, Grand Bretagne et Belgique. La préservation pulmonaire est difficile dans les premières heures après l'arrêt cardiaque du fait de la nécessité de respecter l'intégrité du corps du défunt dans l'attente du déroulement des formalités judiciaires et celles liées au consentement. Les expériences faites jusqu'à présent ont démontré qu'on peut préserver les poumons in situ par refroidissement topique pendant trois heures, puis évaluer leurs fonctionnalités soit in situ par perfusion du corps par oxygénateur à membrane extra corporelle (ECMO), soit en laboratoire, avec un système de perfusion pulmonaire ex-vivo. Les défauts principaux de ces méthodes sont liés à la complexité de leur application clinique (expériences ex-vivo) et au caractère invasif du refroidissement topique qui est peu compatible avec le respect de l'intégrité corporelle du défunt. Avec ce projet, nous avons l'intention de développer une méthode de refroidissement et d'évaluation fonctionnelle du bloc bipulmonaire « in situ » de façon percutanée, par abord direct de la carotide et jugulaire droites. Cette première phase se déroule chez l'animal de laboratoire (le porc de 30/40 kg). Une seconde étude chez l'homme est prévue en fonction des résultats obtenus. Un système de perfusion pulmonaire sélective est mis en place 30-60 min après l'euthanasie de l'animal, d'abord par voie chirurgicale, puis progressivement par voie percutanée, afin de perfuser le bloc bi-pulmonaire par injection directe dans le ventricule droit de Perfadex à 0°-4°C. Le retour sera assuré par une aspiration située dans le ventricule gauche. Une pompe Biomedicus permettra la circulation du système. Sur ces organes ainsi préservés in situ, il est prévu d'analyser, en fonction de la durée de l'ischémie froide, les modifications morphologiques, fonctionnelles et hémodynamiques qui surviennent après l'arrêt cardiaque. Les altérations morphologiques du tissu pulmonaire seront étudiées sur biopsies pulmonaires (histologie, cytologie, immunomarquage) obtenus par thoracoscopie. L'étude des altérations alvéolaires sera l'objet de plusieurs lavages bronchiolo-alvéolaires. L'évaluation fonctionnelle pulmonaire est obtenue par perfusion d'une solution de Perfadex avec hématies (Solution de Steen□, VitroLife, Göteborg - Suède) permettant d'estimer la capacité d'oxygénation de la solution dans l'arbre vasculaire pulmonaire, la ventilation étant maintenue après l'arrêt cardiaque. Enfin les altérations de l'hémodynamique pulmonaire seront étudiées par cathétérisme sélectif. Nous espérons obtenir des résultats au moins superposables à ceux actuellement présents dans la littérature dans le cas de perfusion intervenant 1 heure après l'arrêt cardiaque, mais avec une méthode plus simple et plus facilement réalisable chez l'homme dans le respect de l'intégrité du défunt mais aussi de façon compatible au prélèvement des organes abdominaux.

### Résultats

Pottecher, Julien, Nicola Santelmo, Eric Noll, Anne-Laure Charles, Malika Benahmed, Matthieu Canuet, Nelly Frossard, et al. 2013. « Cold Ischemia with Selective Anterograde in Situ Pulmonary Perfusion Preserves Gas Exchange and Mitochondrial Homeostasis and Curbs Inflammation in an Experimental Model of Donation after Cardiac Death ». *Transplant International*, juillet, n/a-n/a.

[Retour tableau](#)



Année: 2010

## Thérapie cellulaire cardiaque : Utilisation de feuilles de cellules souches dans le traitement des cardiopathies non-ischémiques

**AGBULUT Onnik** - Université Paris Diderot, Paris 7 – Unité de Biologie Fonctionnelle et Adaptative/CNRS EAC 4413

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'insuffisance cardiaque représente un problème majeur de santé publique. Malgré les progrès accomplis en pharmacologie et en chirurgie, le pronostic demeure sévère, justifiant la recherche permanente d'options thérapeutiques nouvelles. La thérapie cellulaire s'inscrit en premier lieu en visant la régénération de zones myocardiques nécrosées. En effet, une greffe cardiaque de cellules somatiques adultes peut améliorer la fonction ventriculaire. Toutefois, on sait aujourd'hui que ce bénéfice procède principalement de mécanismes indirects (voie paracrine), et non de la génération de nouveaux éléments contractiles capables de former un syncytium avec les cardiomyocytes de l'hôte. Par contre, des données récentes de la littérature et notre propre expérience montrent que la greffe de cellules souches embryonnaires (CSE) permet la formation d'un syncytium et l'amélioration de la fonction ventriculaire.

Notre objectif principal est la mise au point d'un produit de thérapie cellulaire constitué par des feuilles de cellules pour un traitement des cardiomyopathies dilatées pour lesquelles la seule option radicale reste aujourd'hui la transplantation cardiaque.

L'utilisation de ces feuilles se justifie par le fait que le traitement se fera sur l'ensemble du ventricule et pas seulement au site d'injection. Ainsi, peut-on espérer augmenter la viabilité des cellules greffées en limitant la mort cellulaire inhérente à la dispersion des cellules lorsqu'elles sont injectées. Les feuilles sont formées par culture de CSE murines et de cellules souches mésenchymateuses autologues d'origine adipeuse sur des films thermosensibles. Aux premières revient la tâche de contribuer à la régénération du myocarde tandis que les secondes visent à apporter un support trophique optimisant la survie du greffon. La greffe se fera par dépôt sur l'épicaarde dans des modèles murins de cardiopathies non-ischémiques. Ces modèles sont créés par invalidation conditionnelle du facteur de transcription SRF (Serum Response Factor) qui joue un rôle clé dans le contrôle de l'expression des gènes cardiaques.

La fonction cardiaque sera évaluée par échocardiographie avant la greffe et un mois plus tard. L'explantation des cœurs permettra une analyse immuno-histochimique visant à détecter les cellules greffées, à les quantifier et à préciser leurs phénotypes. La réalisation de ce projet constitue une des étapes pré-cliniques indispensables avant l'application chez l'homme de ces approches thérapeutiques.

### Résultats

Hamdi, H., S. E. Boitard, V. Planat-Benard, J. Pouly, H. Neamatalla, P. Joanne, M.-C. Perier, et al. 2013. « Efficacy of Epicardially Delivered Adipose Stroma Cell Sheets in Dilated Cardiomyopathy ». *Cardiovascular Research* 99 (4): 640-47.

Hamdi, Hadhami, Valérie Planat-Benard, Alain Bel, Hany Neamatalla, Laetitia Saccenti, Damelys Calderon, Valérie Bellamy, et al. 2014. « Long-Term Functional Benefits of Epicardial Patches as Cell Carriers ». *Cell Transplantation* 23 (1): 87-96.

# Appel d'Offres « Recherche et greffe »

## Efficacy of Epicardially Delivered Adipose Stromal Cell Sheets In Dilated Cardiomyopathy

Hamdi H<sup>1</sup>, Boitard S<sup>2</sup>, Planat-Benard V<sup>3</sup>, Pouly J<sup>4</sup>, Nematalla H<sup>4</sup>, Joanne P<sup>2</sup>, Perier MC<sup>1</sup>, Bellamy V<sup>1</sup>, Casteilla L<sup>3</sup>, Li Z<sup>2</sup>, Mericskay M<sup>2</sup>, Menasché P<sup>3</sup>, Agbulut O<sup>2</sup>

<sup>1</sup> INSERM U970, Paris, France; <sup>2</sup> UPMC, UMR CNRS 8256, Paris, France; <sup>3</sup> UMR 5273 UPS, CNRS, Inserm U1031, STROMALab, Toulouse, France; <sup>4</sup> Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France

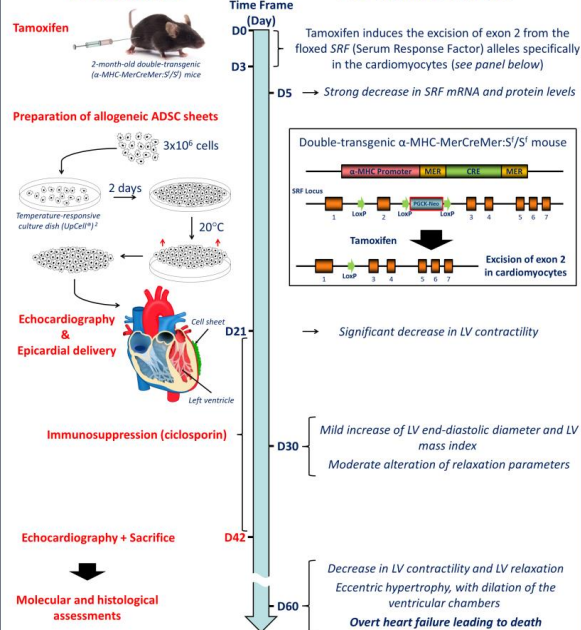
### Objectives

Cell retention in damaged hearts appears as one of the major hurdles for successful myocardial regeneration in stem cell therapy. Our recent study demonstrated that epicardial delivery of adipose derived stroma cell sheets results in greater post-infarction survival associated with better engraftment and preservation of left ventricular geometry than direct intramyocardial injections. Few studies have assessed the effects of cell therapy in non-ischemic cardiomyopathies which, however, contribute to a large number of cardiac failures. We assessed the effects of epicardially delivered adipose tissue-derived stroma cell (ADSC) sheets in a mouse model of dilated cardiomyopathy.

### Procedures

### Methods

### The mouse model

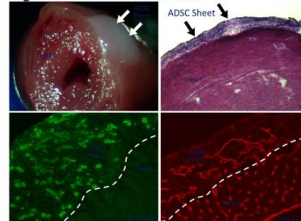


### Experimental groups

- Three weeks after tamoxifen administration, mice were randomly allocated to:
- ✓ Control group (n=9, non-transgenic)
  - ✓ Sham group (n=10, transgenic untreated)
  - ✓ Treated group (n=10, transgenic treated with GFP-ADSC sheets, only for morphological studies)
  - ✓ Treated group (n=10, transgenic treated with ADSC sheets, for functional and mechanistic studies)

### Results

#### Engraftment and vascularisation

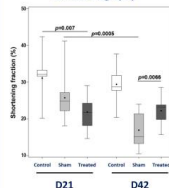


Three weeks after epicardial delivery, ADSC sheets were detected on the surface of the heart.

Grafted cells were identified using GFP immuno-staining (green). Numerous capillaries were detected in epicardially delivered ADSC sheets (red).

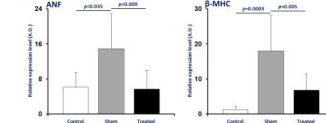
#### Improvement of heart function

##### Echocardiography



In the untreated group, shortening fraction declined after three weeks (D42), whereas the sheet application resulted in its stabilization (see left panel). This correlated with a lesser degree of LV remodeling (data not shown).

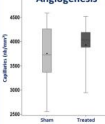
##### qPCR



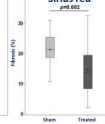
Treated animals also displayed a reduced expression of the stress-induced atrial natriuretic factor (ANF) and β-myosin heavy chain (β-MHC) genes at D42 (see panels above).

#### Remodeling and mechanisms

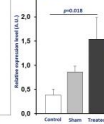
##### Angiogenesis



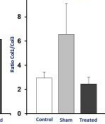
##### Sirius red



##### Colla1

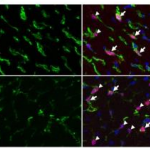
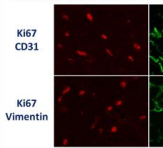


##### Col1/Col3



No differences were observed in angiogenesis (see first panel). However, we observed significant reduction of myocardial fibrosis (see second panel) confirmed by a decrease of Col1/Col3 ratio compared to sham mice (see third and fourth panels).

#### Identification of proliferative cells



Cytokines	Quantity
hFGF	+++
IL-1a	+++
IL-4	++
MMP-3	+++
Pa-lectin	+++
SCF	++
SDF-1a	+++
TMF-2	++
VCAM-1	+++
VEGF	++

After treatment we observed a decrease of vimentin<sup>+</sup> positive proliferative cells (myofibroblasts) while there is no difference concerning CD31<sup>+</sup> positive proliferative cells (endothelial cells) in comparison to untreated animals.

### Conclusions:

Application of the sheet resulted in a stabilization of the shortening fraction correlated with a lesser degree of LV remodeling. These protective effects were also accompanied by a reduction of myocardial fibrosis. These results strongly suggest the functional relevance of epicardially-delivered cells to non-ischemic heart failure



**Année: 2010**

## Diagnostic biologique du rejet après transplantation cardiaque dans la cohorte multicentrique française CALCICOEUR

**BAROUKI Robert** - Service de Biochimie Métabolique, Hôpital Necker – Enfants Malades

[Retour tableau](#)

### Résumé

**Objectifs :** Nous avons initié une étude afin 1) d'évaluer l'activité de la calcineurine en tant que marqueur d'efficacité de la prophylaxie du rejet au cours des 2 premières années qui suivent la transplantation cardiaque, et 2) d'établir une banque de protéines et d'ARN (calcicoeur, PHRC P051066, Agence de la Biomédecine RAB3). Le financement accordé ne concernait que les 6 premiers mois de suivi des patients. La présente demande vise à financer les 18 mois suivants de l'étude et à utiliser la collection biologique constituée pour accroître nos connaissances sur la physiopathologie des réponses immunitaires après transplantation cardiaque.

**Objectif principal :** Rechercher une relation entre l'activité de la calcineurine et la survenue du rejet chronique et sa gravité, entre 6 et 24 mois après la greffe.

**Objectifs secondaires :** Elargir nos connaissances sur la physiopathologie des réponses immunitaires après transplantation cardiaque, notamment au niveau 1) des différentes étapes de l'activation lymphocytaire (profil d'expression de la calcineurine et de NFATc1-4 au niveau génique et protéique, profil d'expression des voies de signalisation et profil d'expression d'un panel de nouveaux biomarqueurs potentiels du rejet), 2) du stress oxydant induit après la transplantation et 3) de l'expression du récepteur aux aryl hydrocarbures (AhR) qui a été récemment identifié comme étant une cible thérapeutique immunomodulatrice prometteuse.

**Résultats attendus :** Cette étude nous permettra 1) d'établir la valeur informationnelle de l'activité de la calcineurine sur le rejet chronique par l'AUC ROC, 2) de déterminer le seuil diagnostique optimal de l'activité de la calcineurine et 3) d'établir les valeurs informationnelles des différents biomarqueurs appréciés dans cette étude sur le rejet par l'AUC ROC.

**Méthodologie :** L'étude calcicoeur est une étude biologique multicentrique ouverte chez 100 patients. Des prélèvements sanguins sont effectués avant greffe, puis 3 fois/semaine jusqu'à J30, 1 fois/semaine jusqu'au 3ème mois et 1 fois/quinzaine jusqu'au 24ème mois après la greffe pour la détermination de l'activité de la calcineurine et l'établissement de la banque de protéines et d'ARN. Le profil d'expression des biomarqueurs, qui font l'objet de la présente demande, sera déterminé sur les prélèvements de cette collection biologique ainsi constituée. Les principaux critères d'inclusion sont des patients majeurs devant bénéficier d'une transplantation cardiaque et recevant une prophylaxie du rejet à base de tacrolimus ou de ciclosporine, et les principaux critères de non-inclusion sont des patients à distance de la transplantation.

Poster

# EVALUATION OF CALCINEURIN ACTIVITY AS A BIOMARKER OF IMMUNOSUPPRESSION IN TRANSPLANTED PATIENTS

Background: Calcineurin inhibitors (CNI) are essential for immunosuppression in transplant recipients. However, their use is associated with adverse effects such as nephrotoxicity and hypertension. The development of a pharmacodynamic (PD) approach to monitor CNI activity and circumvent possible adverse events is a priority. The aim of this study was to evaluate calcineurin activity (CN-a) as a biomarker of immunosuppression in transplant recipients.

Methods: A prospective observational clinical study was conducted in transplant recipients. CN-a was measured at various time points following transplantation. The study included patients receiving cyclosporin (CsA) and tacrolimus (FK506). The primary endpoint was the correlation between CN-a levels and clinical outcomes.

Results: The study included 56 patients. CN-a levels were significantly higher in patients with acute rejection (AR) compared to those without AR. The median CN-a level was 43 pmol/mg/min. The 25th percentile was 17 pmol/mg/min and the 75th percentile was 73 pmol/mg/min. The 90th percentile was 158 pmol/mg/min.

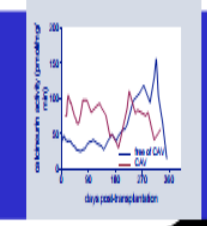
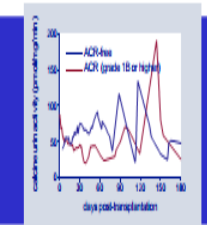
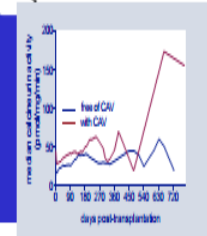
## METHODS

Eligible if their IS treatment included cyclosporin or tacrolimus. The study was conducted in two phases: a pilot study and a main study. The pilot study included 23 patients and the main study included 56 patients. CN-a was measured at various time points following transplantation.

Conclusion: CN-a is a promising biomarker of immunosuppression in transplant recipients. Further studies are needed to confirm its utility in clinical practice.

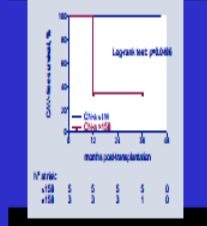
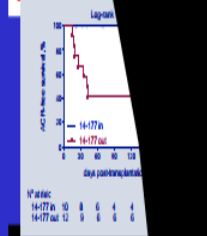
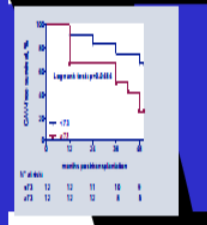
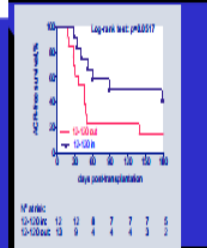
## CONCLUSION

Transplant recipients with extremely high CN-a values are at a high risk of acute rejection. The range for CN-a, associated with the low risk of acute rejection, is 17-73 pmol/mg/min (corresponding to the 25th-75th percentile) for the Tricenter study and 17-158 pmol/mg/min (corresponding to the 25th-90th percentile) for the present study.



### Expression of CN-a values using their quartile range

- 25th percentile: 17 pmol/mg/min
- median: 43 pmol/mg/min
- 75th percentile: 73 pmol/mg/min
- 90th percentile: 158 pmol/mg/min



**Année: 2010**

## Transplantation orthotopique expérimentale de cœurs prélevés arrêtés. Intérêt du post-conditionnement au moment de la reperfusion

**FERRERA René** - INSERM U886

Laboratoire de Physiologie – Faculté de Médecine Lyon Nord

[Retour tableau](#)

### Résumé

Le manque crucial d'organe est responsable de la première cause de mortalité en transplantation cardiaque : ceux qui décèdent avant la transplantation faute de greffons.

- Un certain nombre de cœurs humains sont non utilisés, c'est-à-dire actuellement refusés pour la greffe. Ce sont les cœurs arrêtés au moment du prélèvement et les cœurs dits "douteux", par exemple ceux qui ont une fonction hémodynamique trop instable au cours de la mort cérébrale ou encore ceux qui ont dépassé la période de 4-6 heures de préservation froide, bref il s'agit là de greffons dont on ignore le potentiel de viabilité.
- Une méthode fiable d'évaluation du greffon est donc indispensable pour sécuriser le prélèvement de cœurs douteux ou arrêtés.

### Objectifs - Résultats attendus

L'objectif de cette étude est triple :

- Il s'agit d'une part de tenter de transplanter des cœurs de porc, prélevés arrêtés après une période d'ischémie chaude globale de 10 ou 20 minutes. Le but de ce premier travail est de déterminer la limite de tolérance à l'ischémie chaude du greffon cardiaque.
- D'autre part, sur ces greffons et avant transplantation nous rechercherons des indices fiables de viabilité, en particulier l'analyse des résistances coronaires et les niveaux énergétiques intra-tissulaires.
- Enfin, nous tenterons de savoir si l'on peut efficacement les protéger les greffons cardiaques prélevés arrêtés grâce à un postconditionnement pharmacologique (cyclosporine) administré au moment de la reperfusion.

### Résultats

Abrial, Maryline, Claire Crola Da Silva, Bruno Pillot, Lionel Augeul, Fabrice Ivanès, Geoffrey Teixeira, Régine Cartier, Denis Angoulvant, Michel Ovize, et René Ferrera. 2014. « Cardiac fibroblasts protect cardiomyocytes against lethal ischemia–reperfusion injury ». *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 68 (mars): 56-65.

Ferrera, René, Souhila Benhabbouche, Claire Crola Da Silva, Muhammad Rizwan Alam, et Michel Ovize. 2015. « Delayed low pressure at reperfusion: A new approach for cardioprotection ». *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 150 (6): 1641-1648.e2.

# Appel d'Offres « Recherche et greffe »

## Nouvelle méthode de préservation hypothermique prolongée des greffons cardiaques avant la greffe

Daniel GRINBERG<sup>1,2</sup>, Lionel AUGÉUL<sup>1</sup>, Joseph LOUFOUAT<sup>1</sup>, Elisabeth COUTURE-LEPETIT<sup>1</sup>, Jean-François OBADIA<sup>1,2</sup>, Michel OVIZE<sup>1,2</sup>, René FERRERA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INSERM U1060 CarMeN, Equipe n°5 "Cardioprotection", Université Lyon 1, France

<sup>2</sup> Hôpital Cardiologique Louis Pradel, Hospices Civils of Lyon, BRON - France.

Etude en partie financée par l'INSERM et par l'Agence de Biomédecine

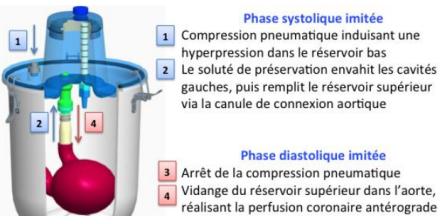
### Objectifs

Le nombre de greffes cardiaques est stable en France depuis 10 ans, du fait de la pénurie de greffons. La défaillance primaire de greffon survenant dans 20% des cas grève la mortalité de la greffe, et est généralement liée à la préservation de l'organe. Malgré le développement des solutés de préservation et des dispositifs de préservation, la durée d'ischémie froide reste limitée à 4-6h. Dans un modèle porcin, nous avons évalué un nouveau dispositif de préservation appelé Perfusion Physiologique Imitée (PPI).

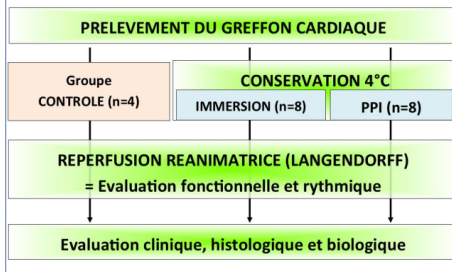
### Méthodologie

Pour la première phase de notre expérimentation, le soluté extracellulaire Saint-Thomas® a été utilisé comme perfusât de préservation.

#### Fonctionnement du dispositif PPI:



#### Protocole expérimental:



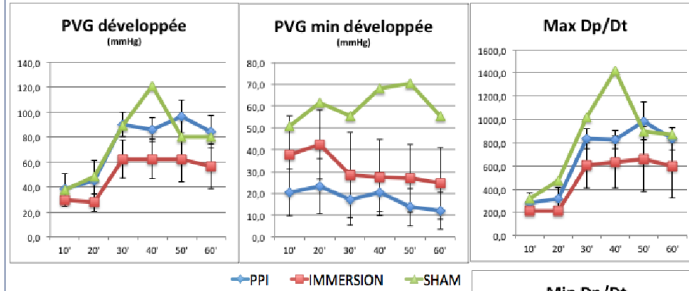
### Résultats

Données sur 2 cœurs contrôles, 5 cœurs « PPI » et 6 cœurs « immersion ».

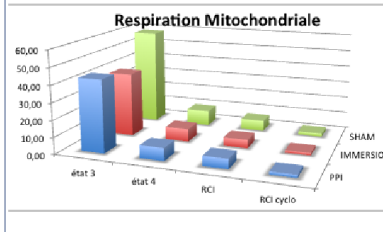
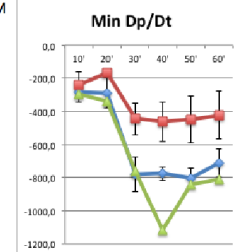
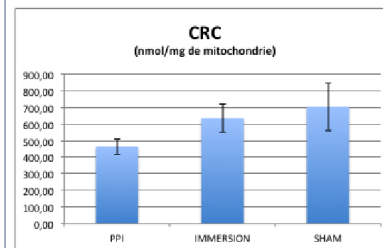
#### Résultats sur la préservation :

- Durée moyenne de préservation : 17h en « PPI » vs 17h50 en immersion, (pas d'incident majeur avec la PPI).
- Prise de poids : 19,42% cœurs PPI vs 0% en immersion (p=0,007).
- Acidification plus marquée du liquide de préservation dans le groupe PPI.

#### Résultats sur les propriétés contractiles au cours de la réanimation :



#### Résultats sur les fonctions mitochondriales:



### Conclusion

Ces résultats indiquent le bon potentiel protecteur de ce dispositif de perfusion pulsatile. Nous débuterons prochainement une nouvelle série évaluant l'utilisation de ce dispositif associé à un perfusât optimisé de type LYPS.

**Année: 2011**

## Intérêt du monoxyde de carbone comme marqueur des lésions d'ischémie-reperfusion de poumons reconditionnés ex vivo

**BRIOT Raphaël** - Labo IMAG, CHU Grenoble

[Retour tableau](#)

### Résumé

#### Objectifs

La pénurie d'organes en transplantation pulmonaire et le nombre croissant de patients inscrits en liste d'attente ont amené certaines équipes à envisager la transplantation de poumons initialement récusés (poumons dits « marginaux »). Néanmoins, cette nouvelle technique n'est possible qu'après évaluation de la viabilité des greffons. Par ailleurs, l'évaluation des lésions notamment d'ischémie reperfusion doit d'être non invasive afin de ne pas détériorer les organes.

Le monoxyde de carbone (CO) est produit dans l'organisme par l'hème oxygénase (HO). Il possède une activité anti-inflammatoire et anti-apoptotique. Son administration diminue les lésions inflammatoires en situation d'ischémie-reperfusion et ce notamment dans des modèles de transplantation pulmonaire. De plus, la mesure du CO expiré est validée en tant que marqueur non invasif de lésions inflammatoires pulmonaires. Notre objectif est d'étudier l'intérêt du CO expiré comme marqueur non invasif des lésions d'ischémie-reperfusion lors du reconditionnement de poumons ex-vivo.

#### Résultats attendus

Nous pensons mettre en évidence une relation inverse entre la concentration en CO expiré et l'importance des lésions d'ischémie-reperfusion objectivées par des mesures invasives. La diminution du CO pourrait ainsi traduire une altération du système HO-1/CO. Nous souhaitons décrire des valeurs références de CO comme critère de viabilité de poumons marginaux. Méthodologie

Modèle porcin. Des porcs de 20kg sont anesthésiés, leurs poumons sont prélevés et subissent une ischémie froide de durée variable. Les poumons sont ensuite reconditionnés par circulation extracorporelle, ventilation mécanique et réchauffement progressif. Après 45 minutes d'état stable à 32°C, les poumons sont évalués par des marqueurs invasifs (mesures de la perméabilité alvéolocapillaire, de la clairance liquidienne et du profil hémodynamique) et par la mesure non invasive du CO expiré.

Mesure du CO. Elle s'effectue par spectrométrie d'absorption laser avec utilisation d'une cavité résonnante de haute finesse. L'appareil possède un seuil de détection du CO inférieur à 5 parties par milliards (ppb) et une fréquence d'acquisition de quelques hertz (5-10Hz). Grâce à des techniques de pollution au CO et/ou en air pur ([CO] <20ppb), nous avons validé la fiabilité de cette mesure dans un modèle de poumon isolé perfusé et ventilé.

Protocole. 4 groupes de porcs seront constitués: contrôle (ischémie de 30 minutes); ischémie prolongée (2 heures); contrôle + SnPP IX (un antagoniste de HO); ischémie prolongée + SnPP IX. Nous étudierons la corrélation entre CO et marqueurs invasifs d'une part, et mesure de cytokines pro / anti inflammatoires d'autre part.

Poumons humains. A partir de poumons humains récusés, nous effectuerons des mesures de CO expiré afin de déterminer des valeurs références de viabilité chez l'homme. Les méthodes de reconditionnement et les mesures effectuées sont les mêmes que celles réalisées sur le modèle porcin.

## Résultats

Thèse: Maignan, Maxime. 2015. « Intérêt du monoxyde de carbone comme marqueur non invasif des lésions d'ischémie-reperfusion de poumons reconditionnés ex vivo ». Grenoble: Grenoble.

Maignan, Maxime, Raphael Briot, Daniel Romanini, Stéphane Gennai, Florence Hazane-Puch, Angélique Brouta, Guillaume Debaty, et Irène Ventrillard. 2014. « Real-time measurements of endogenous carbon monoxide production in isolated pig lungs ». *Journal of biomedical optics* 19 (4): 047001–047001.

Maignan, Maxime, Stéphane Gennai, Guillaume Debaty, Daniele Romanini, Marie-Hélène Schmidt, Vivien Brenckmann, Angélique Brouta, Irène Ventrillard, et Raphaël Briot. 2017. « Exhaled Carbon Monoxide Is Correlated with Ischemia Reperfusion Injuries during Ex Vivo Lung Perfusion in Pigs ». *Journal of Breath Research* 11 (3): 036004.

[Retour tableau](#)

Année: 2011

## Administration de cellules souches mésenchymateuses dans le traitement de la maladie du greffon chez le transplanté cardiaque – Suivi immunologique

ISNARD Richard - Hôpital Pitié-Salpêtrière

[Retour tableau](#)

### Résumé

La thérapie cellulaire représente un enjeu important en pathologie cardiaque. Nous proposons une étude pilote multicentrique, prospective, chez des patients transplantés cardiaques, ayant développé une vasculopathie coronaire sévère, visant à évaluer la faisabilité et la sécurité de l'administration intramyocardique par voie percutanée de cellules souches mésenchymateuses (CSM) autologues issues de la moelle osseuse. Les cellules seront administrées fraîches, après conditionnement sous le volume requis, par le système NOGA. La dose maximale tolérée sera déterminée selon un schéma d'escalade de doses : 50, 100 et 200 millions de CSM avec des cohortes de 3 à 6 patients par palier de dose. Ces patients pourraient bénéficier de 2 propriétés des CSM, leurs fonctions réparatrices et immunomodulatrices. L'effet de l'administration intramyocardique de CSM sera apprécié sur la perfusion coronaire mesurée par tomoscintigraphie isotopique, la réserve contractile mesurée en échocardiographie et sur les paramètres IRM. L'étude de l'effet immunomodulateur des CSM fait l'objet de la demande de financement dans le présent appel d'offres.

Les études immunologiques effectuées sur les CSM ont pour but de confirmer que ces cellules prélevées chez des patients transplantés cardiaques, soumis à différents traitements immunosuppresseurs, ont les mêmes compétences immunologiques que celles prélevées chez des donneurs sains : nous étudierons les marqueurs impliqués dans la présentation de l'antigène, l'absence de capacité immunostimulante, les propriétés immunomodulatrice en culture mixte lymphocytaire. Le dosage des métalloprotéases (MMP-2 et MMP-9), des cytokines proinflammatoires, Th1/Th2/Th17, le TGF- $\beta$  et l'IL-10, des molécules produites par les CSM et qui diminuent la réponse proliférative T (réalisés en Luminex) ainsi que leur capacité à induire des LT régulateurs permettra de mesurer les interactions CSM/LymphocytesT.

Nous rechercherons chez les patients l'induction d'un effet immunomodulateur secondaire à l'administration de CSM. Une analyse transcriptomique globale sera réalisée sur les biopsies endomyocardiques et les cellules du sang afin d'identifier une signature moléculaire potentielle de l'effet de l'injection intramyocardique de CSM. Nous effectuerons également un immunophénotypage en périphérie des sous populations lymphocytaires et de cellules dendritiques, une étude de la production des cytokines inflammatoires/TH1/TH2/TH17 et régulatrices ainsi que des chimiokines qui favorisent le homing des LT vers les tissus siège d'une réponse immune et des cytokines de la balance TH17/Treg. Enfin, nous évaluerons l'activation et la polarisation des LT après stimulation.

L'immunomonitoring sera effectué avant l'administration des cellules, à 48heures, 1, 3 et 6 mois post administration des CSM.

L'étude sera réalisée au sein de l'Institut de Cardiologie du groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, de l'Institut du Thorax du CHU de Nantes et du service de cardiologie du CHU de Toulouse. Elle concerne des patients transplantés, en situation de rejet chronique contrôlé et il n'y a pas d'induction clinique de tolérance attendue. Par contre, elle permettra d'analyser avec prudence les éventuelles modifications de la réponse immune induites par l'administration des CSM dans ces conditions et en fonction nous permettront envisager une étude ultérieure d'utilisation des CSM pour le traitement des rejets.

[Retour tableau](#)

Année: 2011

## Reconstruction de la voie de sortie du ventricule droit par un tube valve bioresorbable cellularisé autologue

KALFA David - INSERM U633

[Retour tableau](#)

### Résumé

Objectifs: Les moyens utilisés en pratique clinique pour la réparation chirurgicale de la voie de sortie ventriculaire droite (RVOT) dans les cardiopathies congénitales sont des matériaux inertes sans potentiel de croissance ni de régénération et conduisant à des reprises chirurgicales multiples.

Notre projet consiste en la création d'un tube valvé trifolié, en PLLA (acide poly-lactique lévogyre) entièrement biorésorbable, ensemencé de cellules souches mésenchymateuses (MSC) autologues issues de cordon ombilical, pour remplacement de la RVOT chez un modèle de gros animal néonatal en croissance.

Les objectifs principaux sont de:

- 1) remplacer la RVOT native chez l'ovine par une matrice tubulaire valvée trifoliée biorésorbable ensemencée de MSC autologues ;
- 2) restaurer une RVOT valvée autologue et vivante, présentant une compétence valvulaire à moyen- et long-terme ;
- 3) prouver le potentiel de croissance et l'absence de dégénérescence du produit d'ingénierie tissulaire chez un modèle d'agneau en croissance.

La preuve du concept a été réalisée par une première étude soutenue par l'Agence de la Biomédecine et nous incite à envisager le deuxième volet, destiné à tester le devenir d'un tube valvé dans un modèle néonatal de gros animal cliniquement pertinent.

Méthodologie : Le tube valvé polymérique biorésorbable sera constitué de PLLA tissé, avec un délai de perte de 50% de résistance mécanique de 12 mois. Les feuillets valvulaires seront découpés, thermoformés et moulés avant la phase d'assemblage tube/feuille. Des tests mécaniques in vitro évalueront les indices mécaniques du tube et de la valve. Des MSC autologues issues du cordon ombilical de l'agneau chez qui le tube sera implanté seront ensemencées en conditions statiques (3,5x10<sup>6</sup> MSC /cm<sup>2</sup> pendant 4 jours), puis en conditions dynamiques dans un bioréacteur pendant 4 semaines. Après évaluation biologique in vitro, les tubes seront implantés sous CEC en position orthotopique chez l'agneau pesant 12 à 20kg. Les résultats seront évalués par échocardiographie, IRM, histologie, immunohistochimie, dosage calcique et tests mécaniques. Une première série préliminaire d'implantation de tubes non valvés ensemencés de MSC autologues (n=6) aura pour objectif d'évaluer leurs propriétés mécaniques et biologiques et le type de recouvrement de surface optimal. Une deuxième série (n=6) déterminera l'origine des cellules constituant le néo-tissu, grâce à l'implantation de tubes ensemencés de MSC non autologues de sexe opposé à celui de l'animal receveur. Enfin, l'évaluation préclinique de l'absence de dégénérescence du tube valvé, de son potentiel de croissance et de sa compétence valvulaire reposera sur l'étude de 20 tubes valvés ensemencés de MSC de cordon ombilical autologues implantés chez l'agneau nouveau-né, avec un suivi de 2 mois à 3 ans.

Résultats attendus: Le résultat espéré de ce remplacement de la RVOT par un tube valvé biorésorbable ensemencé de MSC autologues, chez ce modèle animal néonatal en croissance, est à terme la restitution ad integrum d'une néo voie de sortie droite autologue, vivante, douée d'un potentiel de croissance, évitant ainsi la morbidité et la mortalité majeures inhérentes à la chirurgie actuelle. Le caractère non invasif et immédiatement disponible des MSC de cordon ombilical rend une application clinique potentielle d'autant



plus pertinente chez le nouveau-né atteint de cardiopathie congénitale que le diagnostic anténatal de ces malformations permet d'anticiper le traitement.

### Résultats

Brevet : Kalfa, David, Philippe Menasche, Serge Piranda, Carmes Claude Roques, Du Montcel Christophe Tezenas, et Christian Choux. 2013. Prothese cardiovasculaire en polymere biodegradable comprenant un element tubulaire logeant une valve et procede de fabrication de ladite prothese. FR2980968B1, filed 10 octobre 2011, et issued 27 décembre 2013. <https://patents.google.com/patent/FR2980968B1/en?inventor=kalfa+david&oq=kalfa+david>.

[Retour tableau](#)

**Année: 2011**

## Préservation et évaluation pulmonaire in situ par perfusion froide percutanée dans le cadre du prélèvement d'organes à cœur arrêté : Évaluation de la faisabilité chez le porc.

**SANTELMO Nicolas** - Hôpitaux Universitaires de Strasbourg

[Retour tableau](#)

### Résumé

Le prélèvement d'organes à cœur arrêté est en train de se concrétiser en France en ce qui concerne la greffe de reins. Différentes expériences ont été tentées en Europe dans le domaine de la transplantation pulmonaire, notamment en Espagne, Suède, Grand Bretagne et Belgique. La préservation pulmonaire est difficile dans les premières heures après l'arrêt cardiaque, du point de vue éthique du fait de la nécessité de respecter l'intégrité du corps du défunt dans l'attente du déroulement des formalités judiciaires et celles liées au consentement.

Les expériences faites jusqu'à présent ont démontré qu'on peut préserver les poumons in situ par refroidissement topique pendant trois-six heures, puis évaluer leurs fonctionnalités soit in situ par perfusion du corps par oxygénateur à membrane extra corporelle (ECMO), soit en laboratoire, avec un système de perfusion pulmonaire ex-vivo.

Les défauts principaux de ces méthodes sont liés à la complexité de leur application clinique (expériences ex-vivo) et au caractère invasif du refroidissement topique qui est peu compatible avec le respect de l'intégrité corporelle du défunt.

Nous avons conduit une étude, subventionnée par l'Agence de la Biomédecine en 2009 et 2010, qui nous a permis de démontrer que notre modèle de perfusion sélective de la petite circulation par une solution de Perfadex froide permet une conservation sans détérioration morphologique ni fonctionnelle des poumons chez le porc. Cette étude a été conduite à « thorax ouvert » pour des raisons de mise à point du modèle mais aussi de carence de financement. Les résultats, qui apparaissent très prometteurs avec notamment une conservation optimale jusqu'à 8 heures après l'arrêt cardiaque, sont en cours de publication.

Avec ce projet actuel, nous avons l'intention de développer deux canules permettant la mise en route percutanée de la perfusion avec évaluation fonctionnelle du bloc bipulmonaire « in situ », par abord direct de la carotide gauche et de la jugulaire droite, ainsi que de confirmer les résultats de la première étude avec un groupe témoin.

Nous avons pour cela l'accord de principe du laboratoire Avalon pour la réalisation de ces prototypes.

Cette deuxième phase de notre étude se déroulera chez l'animal de laboratoire (porc de 30/40 kg). Nous envisageons de comparer deux groupes d'animaux, un premier groupe (A) perfusé par une solution de Perfadex et sang de l'animal avec notre modèle expérimental percutanée, un deuxième groupe témoin (B) préservé par simple refroidissement topique pleural (topical cooling, méthode de référence actuelle) avec deux drains pleuraux de chaque côté.

Dans le groupe B, après 6 heures, le système de perfusion sera aussi mis en route afin d'évaluer l'état fonctionnel et structural des organes ainsi conservés.

Sur ces organes préservés in situ (groupes A et B), il est prévu d'analyser, en fonction de la durée de l'ischémie froide, les modifications morphologiques, métabolomiques, fonctionnelles et hémodynamiques qui surviennent après l'arrêt cardiaque.

Nous souhaitons ainsi comparer notre modèle avec la méthode de référence, forts des résultats jusqu'à obtenus dans notre précédente étude et rendre plus simple et sûr le prélèvement pulmonaire dans le

cadre des donneurs à cœur arrêté qui pourrait ainsi devenir faisable en France de façon adaptée à la législation locale.

### **Résultats**

Pottecher, Julien, Nicola Santelmo, Eric Noll, Anne-Laure Charles, Malika Benahmed, Matthieu Canuet, Nelly Frossard, et al. 2013. « Cold Ischemia with Selective Anterograde in Situ Pulmonary Perfusion Preserves Gas Exchange and Mitochondrial Homeostasis and Curbs Inflammation in an Experimental Model of Donation after Cardiac Death ». *Transplant International* 26 (10): 1027-37.

[Retour tableau](#)

Année: 2012

## Rejet humoral infraclinique en transplantation cardiaque : incidence et relation avec la maladie vasculaire du greffon

**BRUNEVAL Patrick** - HEGP

[Retour tableau](#)

### Résumé

Le rejet humoral est apparu ces dernières années comme le principal enjeu en transplantation d'organe solide. Jusqu'à récemment, la définition du rejet humoral en transplantation cardiaque requérait une association de critères clinique (dysfonction cardiaque), anatomopathologiques (inflammation microvasculaire et déposition tissulaire de complément) et biologique (anticorps antiHLA spécifiques du donneur [DSA] dans le sérum). Une telle définition ne rendait pas compte de la totalité du spectre de l'humoralité en transplantation cardiaque. En particulier, l'expérience croissante des équipes a permis d'identifier une situation anatomoclinique particulière, le rejet humoral infraclinique, défini par l'absence de toute dysfonction cardiaque. La reconnaissance de cette entité repose sur des paramètres qui restent à valider, en particulier sur l'analyse des biopsies endomyocardiques (BEM). Les données acquises très récemment restent parcellaires, parfois contradictoires, suggérant cependant qu'il s'agit d'une entité clinique d'intérêt pronostique, notamment en terme de maladie vasculaire du greffon (MVG). Une meilleure connaissance du rejet humoral infraclinique pourrait avoir des conséquences importantes pour la prise en charge des patients transplantés cardiaques.

**Objectif:** Ce projet est centré sur l'étude du rejet humoral infraclinique en transplantation cardiaque. Nos principaux objectifs sont d'affiner les critères de diagnostic du rejet humoral sur BEM, de déterminer l'incidence du rejet humoral infraclinique, d'en définir les caractéristiques évolutives et d'étudier son pronostic, en particulier sa relation avec la maladie vasculaire du greffon.

**Méthodologie:** Il s'agit d'une étude rétrospective bicentrique (La Pitié et HEGP) incluant l'ensemble des 320 transplantations cardiaques réalisées entre le 01/01/2004 et le 31/12/2007. Les informations cliniques relatives à la greffe et au suivi post-transplantation seront recueillies pour chaque bilan annuel : traitement, échocardiographie, scintigraphie myocardique, cathétérisme cardiaque, coronarographie et échographie endocoronaire. La MVG sera gradée selon la dernière classification ISHLT 2010. Un total de 5000 BEM ont été réalisées au cours du suivi de ces patients. Environ 1500 BEM seront relues, sélectionnées selon un double protocole d'inclusion : longitudinal couvrant toute la durée de la greffe et centré sur les BEM ayant présentées des épisodes de rejet cellulaire. Environ 3000 immunomarquages (C3d, C4d et CD68) seront réalisés. La recherche de DSA par technique sensible (Luminex) sera réalisée sur les sérums pré-greffe et après 1 an de greffe (N= 600) et aussi à la période correspondant à une biopsie AMR+. Une étude statistique aura pour principaux objectifs de rechercher une relation entre rejet humoral infraclinique et progression vers la MGv et d'établir une stratification du risque de développer un rejet humoral infraclinique en fonction du taux de DSA prégreffe.

**Résultats attendus :** 20 à 40% des transplantés cardiaques de notre série devraient présenter un rejet humoral infraclinique au cours de l'évolution de la greffe. Notre étude devrait confirmer la nature fluctuante et indolente du processus humoral chez ces patients, conduisant à une progression accélérée de la MVG. Ce travail permettra ainsi d'approcher une histoire naturelle du rejet humoral en transplantation cardiaque. Une meilleure connaissance du rejet humoral infraclinique permettra de juger de la pertinence de futures études de dépistage, de stratification du risque et d'évaluation d'une thérapeutique spécifique.

## Résultats

Tible, Marion, Alexandre Loupy, Dewi Vernerey, Caroline Suberbielle, Thibaut Beuscart, Aurelie Cazes, Romain Guillemain, et al. 2013. « Pathologic classification of antibody-mediated rejection correlates with donor-specific antibodies and endothelial cell activation ». The Journal of Heart and Lung Transplantation 32 (8): 769-76.

## Rejet humoral infraclinique en transplantation cardiaque : incidence et relation avec la maladie vasculaire du greffon

MC Bories<sup>(1)</sup>, P Bruneval<sup>(1)</sup>, P Rouvier<sup>(2)</sup>, P Leprince<sup>(2)</sup>, S Varnous<sup>(2)</sup>, A Loupy<sup>(1)</sup>, JP Duong<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> PARCC, INSERM U970 , Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

<sup>(2)</sup> Chirurgie cardiaque, Réanimation Chirurgicale et Anatomie Pathologique, La Pitié, Paris, France

**Contexte :** Le rejet humoral en transplantation cardiaque était défini par l'association de critères cliniques (dysfonction du greffon), anatomopathologiques avec inflammation de la microcirculation et dépôts tissulaires de complément, et biologiques (présence d'anticorps anti-HLA sériques). L'expérience internationale a permis aujourd'hui d'identifier une situation particulière, le rejet humoral infraclinique, dépourvu de dysfonction d'organe. La reconnaissance de cette entité repose sur des paramètres histologiques qui nécessitent une validation en population. De plus, ce facteur pourrait constituer une entité pronostique, en terme de survie mais également en terme de maladie vasculaire du greffon.

### Objectifs :

- Déterminer l'incidence et la récurrence du rejet humoral dans une cohorte de transplantés cardiaques consécutifs
- Identifier une association entre survenue d'un rejet infraclinique et la MVG.

### Méthodes :

Etude rétrospective bicentrique de 723 transplantés cardiaques consécutifs (La Pitié Salpêtrière et HEGP, Paris) 2004-2011.



### Résultats :

**Incidence du rejet humoral et cellulaire :** Parmi les 12792 BEM évaluées, 1085 avaient un rejet significatif, soit cellulaire ( $\geq 1B/1R$ ), soit humoral ( $\geq pAMR1 I+$  ou  $H+$ ) représentant 8,5% des BEM.

346 BEM avaient un rejet humoral, soit 2,7% de rejet humoral dans la cohorte de BEM concernant 152 patients durant la totalité du suivi, soit 21% de la cohorte de patients.

809 BEM avaient un rejet cellulaire, soit 6,3% de rejet cellulaire dans la cohorte de BEM concernant 319 patients (44,1%).

**Incidence de la maladie vasculaire du greffon (MVG) :** A trois ans de suivi, 362 patients étaient encore vivants : parmi eux 103 patients avaient une MVG  $\geq$  grade 1 selon les critères de l'ISHLT 2010, soit 31,4% de la cohorte. En prenant le suivi total (à la date de recueil des données le 01/07/2015) de ces patients, 156 patients avaient une MVG  $\geq$  grade 1 dans leur suivi, soit 33,6% des patients.

**Association entre rejet humoral à 1 an et maladie vasculaire du greffon à 3 ans de la greffe :** Le rejet humoral dans la première année était un facteur de risque fort de développer une MVG : OR = 2,73. De même pour les DSA pré-greffe avec un OR = 2,43.

**Analyses de survie :** La survenue du rejet humoral analysé dans le suivi post-transplantation (sans limite de temps) était associée à une mortalité plus importante [courbe de survie de Kaplan Meier (test du log rank,  $p=00013$ )].

### Conclusions et perspectives :

La cohorte constituée pour cette étude incluant plus de 700 patients transplantés cardiaques est la plus importante jamais analysée pour déterminer l'incidence du rejet humoral et son association à la maladie vasculaire du greffon.

Outre la détermination de l'incidence du rejet humoral, l'analyse des paramètres de cette cohorte unique a permis de conclure à deux faits importants :

\* la survenue du rejet humoral est associée, lorsqu'il survient dans la première année, à la présence de MVG à 3 ans et à plus long terme. Ainsi, parmi les causes et mécanismes de la MVG, l'origine immunologique est donc démontrée et est un facteur puissant. Cependant d'autres facteurs de risque cardiovasculaires classiques comme le tabagisme, l'hypertension artérielle, l'hyperlipidémie, l'âge (du donneur) ont aussi un impact significatif.

\* la survenue du rejet humoral est associée à une mortalité prématurée des greffés cardiaques, alors que dans 87% des cas le premier épisode est infraclinique (FEVG préservée).

**Perspectives :** La richesse des données accumulées dans cette étude est loin d'avoir été extensivement exploitée et va au-delà du rejet humoral : la fonction rénale, la fonction hépatique, l'assistance ventriculaire de courte ou longue durée, l'inscription en super urgence... sont des paramètres dont il serait intéressant d'analyser l'impact sur la MVG.



**Année: 2012**

## Amélioration de la préservation des greffons cardiaques avant transplantation par l'utilisation d'un nouveau procédé de perfusion par perfusion pulsatile hypothermique

**FERRERA René - INSERM ADR 5**

[Retour tableau](#)

### Résumé

#### Problématique

Deux problèmes majeurs et intimement liés, limitent toujours l'expansion des transplantations cardiaques :

1- la pénurie des greffons. Le manque crucial d'organe est responsable de la première cause de mortalité en transplantation cardiaque : ceux qui décèdent avant la transplantation faute de greffons, soit 10 à 20% des malades proposés selon les séries.

2- la limitation du temps de préservation hypothermique des greffons. La durée de préservation par immersion hypothermique du greffon cardiaque est extrêmement courte: 4-6 heures. Prolonger ce temps de conservation permettrait de transporter les greffons sur de longues distances, au moins à l'échelle européenne, augmentant ainsi le pool de donneurs potentiels, en laissant le temps pour évaluer la viabilité de l'organe, tout en sortant du cadre actuel de l'urgence.

#### Objectifs de l'étude

Notre équipe envisage de répondre aux 2 questions suivantes :

- Peut-on optimiser la protection du greffon cardiaque par l'utilisation d'une nouvelle méthode de perfusion pulsatile hypothermique associée à un soluté de conservation enrichi ?
- Les résistances vasculaires coronaires sont-elles de bons témoins de l'état de viabilité du greffon? Sont-elles bien corrélées avec d'autres indices de viabilité ? Etapes du projet
- Réalisation d'un nouveau prototype optimisé pour le transport et d'évaluation des greffons cardiaques.
- Ce système original associé que notre soluté de perfusion sera ensuite testé sur un modèle in vitro de cœur isolé (modèle Langendorff) avant d'être validé par des transplantations cardiaques expérimentales.

#### Résultats attendus

A terme, l'application de ces procédures à la clinique humaine permettrait de :

- Prolonger le temps de conservation du cœur (mais peut-être aussi des autres organes) au-delà des 4-6 heures habituelles.
- D'utiliser des cœurs prélevés non battant en optimisant leur protection grâce à la perfusion pulsatile hypothermique, tout en les évaluant en temps réel pendant le transport.

Ces procédures de protection assureraient un transport sur de longues distances et permettraient d'augmenter le pool de greffons cardiaques.

## Résultats

Brevet 1 : Ferrera, René. 2014. Method for the hypothermic perfusion of a cardiac organ, and device for the implementation thereof. US8802425 B2, filed 8 décembre 2010, et issued 12 août 2014. <http://www.google.fr/patents/US8802425>.

Brevet 2 : FERRERA, René. 2015. Solution aqueuse de conservation d'un organe et utilisations lors de l'ischémie hypothermique. WO2015071602 A1, filed 13 novembre 2014, et issued 21 mai 2015. <http://www.google.fr/patents/WO2015071602A1>.



# Appel d'Offres « Recherche et greffe »

## Nouvelle méthode de préservation hypothermique prolongée des greffons cardiaques avant la greffe

Daniel GRINBERG<sup>1,2</sup>, Lionel AUGÉUL<sup>1</sup>, Joseph LOUFOUAT<sup>1</sup>, Elisabeth COUTURE-LEPETIT<sup>1</sup>, Jean-François OBADIA<sup>1,2</sup>, Michel OVIZE<sup>1,2</sup>, René FERRERA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INSERM U1060 CarMeN, Equipe n°5 "Cardioprotection", Université Lyon 1, France

<sup>2</sup> Hôpital Cardiologique Louis Pradel, Hospices Civils of Lyon, BRON - France.

Etude en partie financée par l'INSERM et par l'Agence de Biomédecine

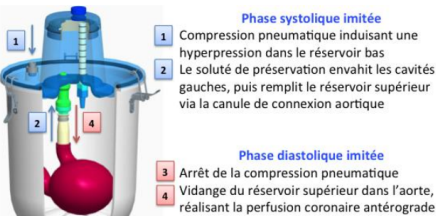
### Objectifs

Le nombre de greffes cardiaques est stable en France depuis 10 ans, du fait de la pénurie de greffons. La défaillance primaire de greffon survenant dans 20% des cas grève la mortalité de la greffe, et est généralement liée à la préservation de l'organe. Malgré le développement des solutés de préservation et des dispositifs de préservation, la durée d'ischémie froide reste limitée à 4-6h. Dans un modèle porcin, nous avons évalué un nouveau dispositif de préservation appelé Perfusion Physiologique Imitée (PPI).

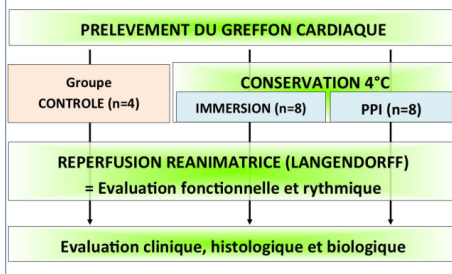
### Méthodologie

Pour la première phase de notre expérimentation, le soluté extracellulaire Saint-Thomas® a été utilisé comme perfusât de préservation.

#### Fonctionnement du dispositif PPI:



#### Protocole expérimental:



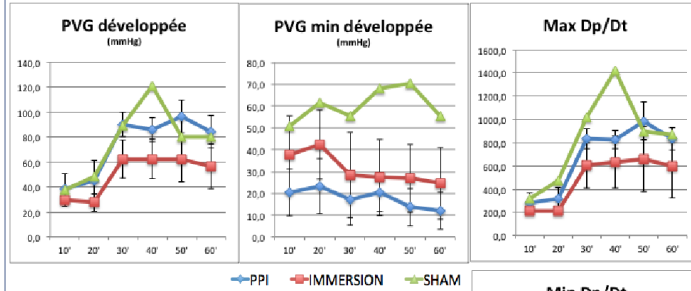
### Résultats

Données sur 2 cœurs contrôles, 5 cœurs « PPI » et 6 cœurs « immersion ».

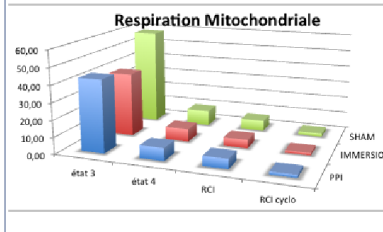
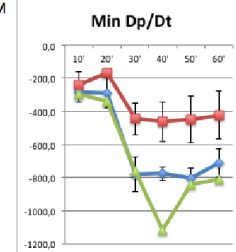
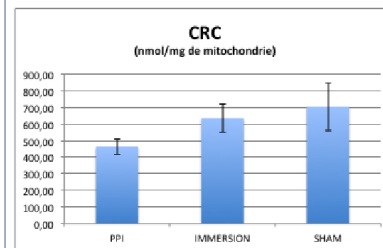
#### Résultats sur la préservation :

- Durée moyenne de préservation : 17h en « PPI » vs 17h50 en immersion, (pas d'incident majeur avec la PPI).
- Prise de poids : 19,42% cœurs PPI vs 0% en immersion (p=0,007).
- Acidification plus marquée du liquide de préservation dans le groupe PPI.

#### Résultats sur les propriétés contractiles au cours de la réanimation :



#### Résultats sur les fonctions mitochondriales:



### Conclusion

Ces résultats indiquent le bon potentiel protecteur de ce dispositif de perfusion pulsatile. Nous débuterons prochainement une nouvelle série évaluant l'utilisation de ce dispositif associé à un perfusât optimisé de type LYPS.

Année: 2013

## Rôle des récepteurs purinergiques dans l'activation des cellules dendritiques au cours des lésions d'ischémie reperfusion du greffon cardiaque (CardioDC)

ANGOULVANT Denis - Université de Tours

[Retour tableau](#)

### Résumé

Le phénomène d'ischémie-reperfusion myocardique constitue un évènement inéluctable en transplantation cardiaque, à l'origine de lésions majeures et irréversibles du greffon. Cependant, à l'heure actuelle, il n'existe aucun agent thérapeutique validé pour la prévention ou le traitement des lésions d'ischémie-reperfusion. Ces lésions sont, très largement, le résultat de l'activation des cellules du système immunitaire et de la réponse inflammatoire induite. En effet, la séquence d'ischémie-reperfusion expose le greffon à un stress cellulaire associé à une nécrose, entraînant la libération de signaux de danger. Ces signaux peuvent activer les cellules du système immunitaire inné, initiant ainsi une réponse inflammatoire stérile. En particulier, les cellules dendritiques ont été montrées comme impliquées dans les lésions d'ischémie-reperfusion. Cependant, les types cellulaires et les mécanismes moléculaires impliqués dans ces effets restent à déterminer.

Au cours du projet CardioDC, qui a débuté en janvier 2012, nous avons pu montrer que les cardiomyocytes stressés par une séquence d'ischémie-reperfusion libéraient des signaux de danger dans le milieu extracellulaire, à l'origine de la maturation et de la migration des cellules dendritiques humaines. De plus, nous avons montré que 40 % de l'activation observée était médiée par les récepteurs purinergiques. Ces récepteurs, stimulés par les nucléotides extracellulaires, dont l'ATP, présentent un rôle important dans les fonctions des cellules immunitaires en condition physiopathologique.

Objectifs : L'objectif de ce projet est d'identifier de nouvelles cibles, dont la modulation pharmacologique pourrait permettre de prévenir les lésions d'ischémie-reperfusion du greffon myocardique lors de son implantation. Grâce à des techniques de patch clamp et de spectrofluorimétrie calcique, nous discriminerons le ou les récepteurs purinergiques impliqués l'activation des cellules dendritiques. Puis, en utilisant une approche d'inhibition pharmacologique (antagonistes) et moléculaire (siRNA) sur un modèle in vitro de co-culture cellulaire soumise à une ischémie-reperfusion simulé, nous nous proposons d'étudier l'effet de la modulation de ce récepteur purinergique chez les cellules dendritiques dans la survie des cardiomyocytes. Enfin, nous confirmerons le rôle de ce récepteur dans les lésions d'ischémie-reperfusion in vivo, sur un modèle de transplantation cardiaque hétérotopique chez la souris WT/KO pour le récepteur purinergique identifié.

Résultats attendus : Nous attendons de cette approche l'identification du récepteur impliqué dans la différenciation des cellules dendritiques vers un profil pro-inflammatoire lors du stress d'ischémie-reperfusion myocardique. Cette étude devrait nous permettre d'identifier une nouvelle cible moléculaire permettant, à terme, un transfert à la clinique avec le développement d'un anticorps thérapeutique à visée préventive contre les lésions d'ischémie-reperfusion myocardique, en transplantation cardiaque.

Méthodologie : Le projet CardioDC est un projet composé de 3 parties. Les deux premières parties du projet seront consacrées à l'identification du récepteur purinergique impliqué dans l'activation des cellules dendritiques (Partie 1) et à l'étude de son rôle dans la survie des cardiomyocytes (Partie 2). Ces parties seront réalisées sur un modèle de co-culture cardiomyocytes/cellules dendritiques. Les cellules dendritiques provenant de la co-culture seront ensuite prélevées et utilisées en réaction mixte lymphocytaire, afin d'étudier leur capacité à activer les lymphocytes T naïfs. La 3e partie du projet consistera à confirmer le rôle du récepteur purinergique identifié dans les lésions d'ischémie-reperfusion chez la souris (WT et KO pour le récepteur identifié), dans un modèle de transplantation cardiaque (Partie 3).

## Résultats

Benoist, Lauriane, Stéphanie Chadet, Thibaud Genet, Claudie Lefort, Audrey Heraud, Maria D. Danila, Danina M. Muntean, et al. 2019. « Stimulation of P2Y11 Receptor Protects Human Cardiomyocytes against Hypoxia/Reoxygenation Injury and Involves PKC $\epsilon$  Signaling Pathway ». Scientific Reports 9 (1): 1-11.

Bourguignon, Thierry, Lauriane Benoist, Stéphanie Chadet, Elodie Miquelstorena-Standley, Gaëlle Fromont, Fabrice Ivanès, et Denis Angoulvant. 2019. « Stimulation of murine P2Y11-like purinoreceptor protects against hypoxia/reoxygenation injury and decreases heart graft rejection lesions ». The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery 158 (3): 780-790.e1.

Chadet, Stéphanie, Fabrice Ivanès, Lauriane Benoist, Charlotte Salmon-Gandonnière, Roseline Guibon, Florence Velge-Roussel, Dominique Babuty, Christophe Baron, Sébastien Roger, et Denis Angoulvant. 2015. « Hypoxia/Reoxygenation Inhibits P2Y11 Receptor Expression and Its Immunosuppressive Activity in Human Dendritic Cells ». The Journal of Immunology 195 (2): 651-60.

[Retour tableau](#)

Année: 2013

## Rôle immunomodulateur de la cellule épithéliale bronchique sur la réponse allogénique T chez des patients greffés pulmonaires

**ROUAS-FREISS Nathalie** - CEA

[Retour tableau](#)

### Résumé

Le rejet chronique, sous la forme d'une bronchiolite oblitérante, reste la première cause de mortalité chez les patients greffés pulmonaires. La cible de ce rejet chronique est la cellule épithéliale bronchique (CEB), via des lésions cellulaires impliquant une interaction entre cellules dendritiques des voies aériennes, cellules T du receveur, et cellules épithéliales bronchiques. De nombreuses données in vitro et en transplantation d'organes suggèrent un état de tolérance associée à l'expression de la molécule HLA-G, par la modulation des fonctions des cellules effectrices de la réponse immune (cellules NK, T, et présentatrices de l'antigène [APC]). En greffe pulmonaire chez l'homme, nous avons montré préalablement que l'expression de HLA-G par les CEB était corrélée à la stabilité du greffon pulmonaire.

Afin de reproduire les mécanismes les plus proches de la réalité, nous proposons d'étudier une réaction mixte entre les APC et les lymphocytes T (Ly-T) autologues de patients greffés pulmonaires en état stable, ou en rejet chronique en présence de CEB du greffon. Vingt patients greffés pulmonaires seront inclus (10 patients stables et 10 en rejet chronique), dont les CEB seront isolées à partir de biopsies endobronchiques prélevées par fibroscopie, mises en cultures primaires, et stimulées avec l'IFN- $\gamma$ . En parallèle, une différenciation de monocytes périphériques des mêmes receveurs sera effectuée en présence ou non du surnageant issu de ces cultures de CEB. Enfin, Une réaction mixte sera effectuée entre les Ly-T et les APC dérivées des monocytes, toujours en présence de CEB et de leur surnageant. Le rôle potentiel du microenvironnement (incluant la molécule HLA-G, et l'IL-15) des cultures primaires de CEB sur la différenciation monocyttaire en APC et sur la prolifération lymphocytaire lors de la réaction mixte seront analysés.

L'étude du dialogue entre la cellule épithéliale bronchique et les cellules immunitaires du receveur se base sur l'hypothèse qu'un des premiers niveaux de modulation serait lié à la capacité de la CEB de jouer directement le rôle d'APC vis-à-vis des Ly-T. Deuxièmement, la CEB pourrait affecter la fonction des cellules immunitaires (cellules dendritiques et Ly-T) en produisant un microenvironnement favorable, via la sécrétion de facteurs solubles. L'implication de la molécule HLA-G dans ce microenvironnement sera recherchée.

Pour réaliser ces objectifs, deux équipes de recherche vont potentialiser leur savoir-faire en immunologie et en physiopathologie respiratoire associées au service clinique de pneumologie de l'hôpital Bichat. Le caractère ambitieux de ce projet réside dans la prise en compte de l'immunité locale dans le greffon pulmonaire à travers l'étude des propriétés immunologiques de la cellule épithéliale bronchique du greffon et sa capacité à contrôler la réaction de rejet. Ce projet devrait ainsi permettre de préciser le rôle de la cellule épithéliale bronchique comme acteur majeur modulant la réponse immunitaire du receveur.

### Résultats

Dupin, Clairelyne, Elodie Lhuillier, Séverine Létuvé, Marina Pretolani, Gabriel Thabut, Hervé Mal, Edgardo Carosella, et al. 2017. « Inhibition of T Cell Alloreactivity by Bronchial Epithelium Is Impaired in Lung Transplant Recipients, Through Pathways Involving TGF- $\beta$ , IL-10 and HLA-G »: Transplantation 101 (9): 2192-99.

# Rôle immunomodulateur de la cellule épithéliale bronchique sur la réponse allogénique T chez des patients greffés pulmonaires

Coordinateur: Rouas-Freiss Nathalie<sup>1,2</sup> et Partenaires: Pretolani Marina<sup>3</sup> et Brugière Olivier<sup>4</sup>

<sup>1</sup>CEA, IMETI, Service de Recherche en Hématologie-Immunologie, Hôp. Saint-Louis, Paris, France <sup>2</sup>Univ Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, IUH, UMR E5, Paris, France, <sup>3</sup>INSERM U1152, Université Paris 7, site Bichat, Paris, France, <sup>4</sup>Service de Pneumologie B, Hôp. Bichat, Paris, France

### Introduction

**Transplantation pulmonaire (TxP)**

- ✓ Traitement validé pour les maladies respiratoires terminales.
- ✓ Survie à long terme limitée par la survenue fréquente d'une dysfonction chronique du greffon: syndrome de bronchiolite oblitérante (SBO)
- ✓ Survie médiane après TxP = 5,6 ans

**HLA-G**

- ✓ Molécule TOLÉROGENE
- ✓ 4 formes solubles, 3 formes membranaires
- ✓ Complexe majeur d'histocompatibilité de type I non classique
- ✓ Récepteurs inhibiteurs: IL2, IL4, IL10
- ✓ Expression inducible en pathologie: après transplantation d'organe (dans la cellule épithéliale bronchique (CEB) en TxP), cancer, pathologie virale ou inflammatoire.
- ✓ Rôle dans le rejet chronique en TxP?

**Syndrôme de bronchiolite oblitérante (SBO)**

**Impact**

- 1<sup>ère</sup> cause de mortalité tardive chez les receveurs
- 50% des receveurs atteints à 5 ans de la TxP
- Absence de biomarqueur
- Traitements immunosuppresseurs incapables de prévenir l'apparition du SBO

**Histologie**

Remaniement inflammatoire fibro-prolifératif  
Localisation: sous-muqueuse des bronchioles distales → occlusion partielle ou totale du calibre luminal  
Cellules impliquées: cellules épithéliales bronchiques (CEB), cellules dendritiques (CD) et lymphocytes T (LyT)

**Physiopathologie**

Immunité cellulaire: rôle central de l'interaction cellules présentatrices d'antigène (CPA) des voies aériennes et lymphocytes T (LyT) par présentation antigénique du donneur. Réponse Th1.

Immunité humorale: anticorps (Ac) spécifiques du donneur, auto-Ac.  
CEB: pilier de la régulation immunitaire locale.

### Hypothèse

Le SBO post-TxP est lié à une dysrégulation de l'homéostasie immunitaire médée par les CEB.

### Objectifs

Etude du dialogue entre CEB, LyT et CPA chez des patients greffés pulmonaires à l'aide d'un modèle ex-vivo

- **Objectif principal:** évaluer les propriétés immunosuppressives des CEB sur la réponse T-allogénique chez les greffés pulmonaires vs contrôles sains.
- **Objectif secondaire:** évaluer le rôle d'agonistes tolérogènes dans cette inhibition (HLA-G, IL-10, TGF-β, PGE2)

### Matériels et méthodes

#### Origine des prélèvements

Collaborations avec les équipes de:

- ✓ Pneumologie B et de Transplantation Pulmonaire de l'Hôpital Bichat-Claude Bernard
- ✓ Chirurgie Thoracique de l'Hôpital Bichat-Claude Bernard
- ✓ EFS de l'Hôpital Saint-Louis

**Patients**

Donneur de sang (EFS) → Donneur de CEB (EFS) → Biopsies → Digestion → Culture primaire → CEB

**Témoins**

Bronches de Donneur d'organe → Biopsies → Digestion → Culture primaire → CEB

#### Populations cellulaires

- CEB en culture primaire: issues de biopsies prélevées en fibroscopie (photo: CEB en phase de croissance sortant d'une biopsie bronchique)
- PBMC (des MLR): isolés par centrifugation sur Ficoll
- LCL (des MLR): lignée cellulaire exprimant fortement CMH II

**Profil de cytokines et dosage HLA-G**

Dans LBA, plasma et surnageant de CEB,

- ✓ Par ELISA: TGF-β, HLA-G
- ✓ Par LUMINEX: 18 cytokines

**Immunomarquage HLA-G**

- ✓ Sur CEB: lames blanches de biopsies bronchiques (immunohistochimie)
- ✓ Sur cellules alvéolaires: cytopsin obtenus par centrifugation de LBA

#### Influence de la CEB sur la réaction mixte lymphocytaire (MLR)

Patients (receveur) ou Témoins (donneur EFS) → PBMC → MLR → LCL (CPA professionnelle) → Banque

Patients (receveur) ou Témoins (branche de donneur d'organe) → CEB → MLR → LCL (CPA professionnelle) → Banque

**Prolifération des lymphocytes T via mesure de l'expansion (Dil)**

Profil de cytokines et dosage HLA-G

### Résultats

#### Populations

**Caractéristiques cliniques des patients inclus dans l'étude selon leur statut stable ou SBO**

	Patients en SBO (n=23)	Patients stables (n=22)	p
Age	55,90 ± 2,4	57,77 ± 2,56	0,58
Sexe			
- Homme	14	14	
- Femme	9	8	
Date entre transplantation et prélèvement (mois)	48 ± 1,13	146,3	0,85
Type de greffe			
- OLP	3	11	
- MIP	3	6	
- OLP + MIP	7	5	
Dose de prednisone	9,3440,96	13,4151,71	0,07
Anti-calcineurine			
- Cyclosporine	11	20	0,58
- Tacrolimus	11	20	
Résultats Histochimie *	9,17 ± 0,81	8,240,81	0,47
Résultats Coloposie *	1166	1129,5	Effet significatif
PCR CMV (LBA) positif/négative**	8/7	3/16	0,96
PCR VSV (LBA) positif/négative**	1/3	4/9	0,8
PCR Mycoplasma (LBA) positif/négative**	4/6	9/11	0,82
Bactériologie (LBA) positif/négative**	4/7	5/11	0,31
Mycobacter (LBA) positif/négative**	5/8	7/10	0,89

#### Expression d'HLA-G soluble et membranaire

- ✓ concentration plasmatique moyenne: 12,28 ± 6,63 pg/mL (n=16 patients)
- ✓ concentration moyenne dans le LBA: 1,13 ± 0,53 pg/mL (n=16 patients)
- ✓ Absence de détection dans le surnageant (n=33 patients et témoins)
- ✓ Immunomarquage positif chez un patient (cellules alvéolaires) et un patient (CEB)

### La CEB inhibe fortement l'alloprolifération T en MLR

La CEB inhibe significativement la prolifération lymphocytaire T

- Chez les témoins
- Avec un effet « dose-réponse » chez les témoins

Les MLR ont été réalisées sans CEB (PBMC: LCL valeur de référence, barre noire) puis en présence de concentrations croissantes de CEB de sujets témoins (rapports respectifs de CEB de 0,25 (barre blanche), 0,1 (barre quadrillée) et 0,25 (barre rayée) pour 1 PBMC et 0,5 LCL)

**Témoins n=17**

**Patients n=22**

**La capacité d'inhibition des CEB est diminuée chez les greffés stables vs témoins (26%, p=0,01)**

**La capacité d'inhibition des CEB est similaire chez les greffés en SBO vs témoins (62%, p=0,46)**

### L'inhibition de prolifération de la CEB nécessite un facteur soluble

En MLR (patients et témoins)

- ✓ L'ajout de surnageant inhibe fortement la prolifération lymphocytaire T
- ✓ Tendance à un pouvoir immunosuppresseur supérieur du surnageant comparativement aux CEB

La neutralisation de

- TGF-β
- IL-10
- HLA-G
- IL12
- IL4
- PGE2

Montre une restauration significative de la prolifération inhibée par les CEB via TGF, IL-10 et IL4.

**Profil cytokinique du surnageant de CEB modifié chez le greffé**

	Témoins	Patients	P
TGF-β	20,82 ± 4,35	30,33 ± 8,89	0,04*
IFN-γ	4,10 ± 1,29	0,70 ± 0,26	0,0001*
IL-10	9,32 ± 1,11	2,10 ± 0,38	0,001*
IL-17	1,98 ± 0,52	0,64 ± 0,19	0,01*
IL-17A	1,26 ± 0,23	0,41 ± 0,05	0,002*
IL-18	1,02 ± 0,28	0,38 ± 0,07	0,001*
IL-2	0,47 ± 0,06	0,31 ± 0,03	0,06*
IL-4	53,70 ± 14,19	100,80 ± 34,42	0,04*
IL-6	1007,86 ± 202,86	665,80 ± 103,16	0,04*
IP-10	27,71 ± 7,79	9,32 ± 2,16	0,03*
IP-17	3,90 ± 0,98	2,92 ± 0,61	0,06*
RANTES	3,60 ± 0,75	1,56 ± 0,40	0,03*
TNF-α	1,92 ± 0,24	0,96 ± 0,20	0,06*
IL-8	16,86 ± 0,23	17,63 ± 0,43	0,12

Chez le greffé: Expression augmentée d'IL-4 et diminuée d'IFN-γ, MDC, IL-17A

### Conclusions et perspectives

- La CEB humaine est un élément clé de l'immunomodulation locale via son interaction inhibitrice avec le Ly-T.
- Après TxP, sa capacité immunosuppressive sur les cellules T est significativement diminuée, mais lors du SBO, son action inhibitrice est comparable à celle de CEB témoins pré-transplantation. Cette dysrégulation pourrait participer à l'initiation du processus des lésions de SBO en abaissant le seuil de contrôle de l'allo-réactivité et en autorisant une activation lymphocytaire T.
- IL-10, TGF-β, HLA-G via IL4 semblent impliquées dans la médiation de l'immunosuppression de la CEB.
- D'autres cytokines du microenvironnement pourraient jouer un rôle dans la perte d'inhibition de la CEB observée chez les greffés stables (diminution d'IL-17A, et IFN-γ, augmentation d'IL-4).

Année: 2013

## Détection in situ d'anticorps allogéniques anti-HLA spécifiques du donneur chez les transplantés cardiaques ou pulmonaires

TAUPIN Jean-Luc - CHU Bordeaux

[Retour tableau](#)

### Résumé

**Objectifs.** En greffe d'organe, l'allo-immunisation est mise en évidence par la recherche dans le sérum du receveur d'anticorps anti-HLA du donneur (DSA pour Donor-Specific Antibody). Récemment s'est généralisée l'utilisation de techniques très sensibles (dites « Luminex ») et très résolutive (format « single antigen »), permettant de détecter de très faibles quantités d'anticorps d'isotype IgG et de préciser la cible antigénique avec une précision allélique. Leurs performances permettent d'envisager leur utilisation dans d'autres milieux biologiques, et notamment l'organe lui-même, à partir de fragments de biopsies, échantillons dont la petitesse requiert une méthode d'analyse très sensible. Nous avons récemment utilisé cette approche pour montrer chez des transplantés rénaux la supériorité de la biopsie par rapport au sérum pour préciser la gravité de la réponse humorale anti-greffe (Bachelet et coll, article soumis pour publication). Nous souhaitons adapter cette procédure aux greffes d'organes thoraciques (cœur et poumon), pour lesquelles les connaissances quant au rôle pathogène des allo-anticorps sont moindres, et pour lesquelles la biopsie est pratiquée de façon beaucoup plus régulière et fréquente.

**Résultats attendus.** La détection directe in situ de DSA, ainsi que la comparaison pour la biopsie des critères histologiques et de la recherche de dépôts de complément (C4d), avec la recherche classique de DSA dans le sérum, permettront de préciser si la biopsie est plus performante pour la mise en évidence de DSA IgG, capables ou non d'activer le complément par la variante C1q. Le relevé des données histologiques, et de l'état clinique des patients au moment de la biopsie et à distance permettront de préciser l'intérêt diagnostique de ce test et si la détection de DSA dans la biopsie peut prédire l'évolution de la fonction du greffe. Les échantillons antérieurs disponibles seront aussi analysés pour définir si l'étude in situ permet de détecter de façon plus précoce l'apparition de DSA que le sérum.

**Méthodologie.** 39 et 36 patients ont reçu un greffe pulmonaire ou cardiaque au CHU de Bordeaux de 2009 à 2011, conservé un organe fonctionnel plus de un an, et 10 ont développé un DSA dans les 2 ans. De plus, parmi les greffés de 1998 et 2008, 34 ont développé des DSA, explorés dans le sérum à partir de 2009, et pour lesquels des fragments de biopsie reliquats des analyses histologiques ont été congelés. Ils seront utilisés pour l'étude in situ des anticorps anti-HLA. Les biopsies prélevées à 1 an et 2 ans post-greffe seront étudiées comparativement au sérum du même jour. L'éluat est réalisé en milieu acide, puis après neutralisation en milieu alcalin, l'éluat est soumis à l'étude en « single antigen » à la recherche de DSA. Les éluats de biopsies trouvés positifs en « single antigen » seront ensuite analysés en test C1q, une variante du test « single antigen » qui permet de définir la capacité des anticorps à activer le complément.

### Résultats

Visentin, Jonathan, Albane Chartier, Loyal Massara, Gabriel Linares, Gwendaline Guidicelli, Elodie Blanchard, Marie Parrens, Hugues Begueret, Claire Dromer, et Jean-Luc Taupin. 2016. « Lung intragraft donor-specific antibodies as a risk factor for graft loss ». *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 35 (12): 1418-26.

[Retour tableau](#)

Année: 2014

## Evaluation du bénéfice de la transplantation pulmonaire sur la survie et facteurs associés à ce bénéfice

**PORCHER Raphaël** - Centre d'Epidémiologie clinique, hôtel Dieu

[Retour tableau](#)

### Résumé

La transplantation pulmonaire est la seule option thérapeutique susceptible d'améliorer la survie et la qualité de vie des patients souffrant d'insuffisance respiratoire chronique grave. En dépit d'améliorations constantes, la survie des patients après transplantation pulmonaire reste cependant limitée et plusieurs études ont remis en cause le bénéfice de la transplantation pulmonaire sur la survie des patients, bien que les méthodes statistiques employées soient discutables. L'étude du bénéfice de la transplantation pulmonaire et des facteurs associés à ce bénéfice reste donc d'actualité, y compris dans un contexte où des scores d'allocation des greffons ont été implémentés pour optimiser leur allocation. Les problématiques principales sont de déterminer quels patients inscrire sur les listes d'attente d'une transplantation pulmonaire, le moment idéal d'inscription, quels patients transplanter et le moment idéal de transplantation.

Les objectifs de ce projet de recherche sont de déterminer le bénéfice de la transplantation pulmonaire et les paramètres associés à ce bénéfice dans les trois principales indications de transplantation pulmonaire dans le monde qui sont la BPCO, la mucoviscidose et la fibrose pulmonaire. En l'absence d'essais cliniques randomisés, l'évaluation du bénéfice de la transplantation pulmonaire repose sur la modélisation statistique de données observationnelles. Nous utiliserons pour cela les données de l'International Society for Heart & Lung Transplantation (ISHLT). Les méthodes utilisées doivent cependant tenir compte de la nature observationnelle des données tout en produisant des résultats qui puissent avoir une interprétation causale, c'est-à-dire qui puissent permettre de conclure au bénéfice de la transplantation pulmonaire en soi, et pas de la transplantation pulmonaire associées à la décision de transplantation. Dans ce contexte, nous avons identifié six approches qui seront comparées : des modèles pour le risque de décès (modèles joints pour des processus longitudinaux et des données de survie, modèles marginaux structuraux, modèles structuraux emboîtés, stratification séquentielle) et deux types de modèles pour la moyenne de survie.

D'un point de vue clinique, ce projet permettra d'estimer le bénéfice de la transplantation pulmonaire dans les trois pathologies analysées (mucoviscidose, BPCO et fibrose pulmonaire), ainsi que les paramètres associés à ce bénéfice, à l'aide des méthodes les plus récentes adaptées à la nature des données. D'un point de vue méthodologique, il permettra de déterminer les avantages et les limites des approches envisagées pour estimer le bénéfice de la transplantation pulmonaire.

### Résultats

Harhay, Michael O., Raphaël Porcher, Edward Cantu, Michael J. Crowther, Jason D. Christie, Gabriel Thabut, et Gavin C. Donaldson. 2018. « An Alternative Approach for the Analysis of Time-to-Event and Survival Outcomes in Pulmonary Medicine ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, avril.

Harhay, Michael O., Raphaël Porcher, Gabriel Thabut, Michael J. Crowther, Thomas DiSanto, Samantha Rubin, Zachary Penfil, et al. 2019. « Donor Lung Sequence Number and Survival after Lung Transplantation in the United States ». *Annals of the American Thoracic Society* 16 (3): 313-20.

[Retour tableau](#)





**Année: 2014**

## Poursuite de l'Etude pilote de la transplantation de greffons pulmonaires réhabilités en ex vivo

**SAGE Edouard** - Hôpital Foch

[Retour tableau](#)

### Résumé

Objectif : L'objectif principal est de poursuivre « l'étude pilote de la transplantation de greffons pulmonaires réhabilités en ex vivo » en incluant les 10 derniers patients. Cette étude a pour but de déterminer le nombre de greffons « à critères élargis » que la technique de réhabilitation ex vivo permet d'utiliser pour la transplantation et, de ce fait, le gain moyen réel par patient en terme de délai d'attente avant transplantation.

Les objectifs secondaires de jugement concernent :

- la réduction que l'on peut escompter du nombre de décès de patients en liste d'attente,
- la technique de réhabilitation selon la méthode mise au point à Toronto.
- le suivi des transplantations réalisées.

Méthodologie : Il s'agit d'une étude prospective, bicentrique et ouverte réalisée à l'hôpital Foch et au Centre Chirurgical Marie-Lannelongue, qui commence à la signature du consentement, se termine à la 24ème heure post-opératoire.

a) information et consentement : information concernant le protocole délivrée lors de l'inscription sur la liste d'attente de transplantation.

b) prélèvement pulmonaire : appel de l'Agence de Biomédecine avec proposition d'un greffon « à critères élargis » non utilisé par les équipes de greffe, prélèvement de ce greffon par l'équipe de transplantation,

c) réhabilitation ex vivo selon la technique de Toronto: préparation du greffon, mise du greffon dans le dispositif médical XVIVO, initiation de la perfusion avec le liquide de Steen et ventilation ex vivo, phase d'équilibre de la perfusion et ventilation ex vivo, évaluation du greffon avec décision de transplantation du greffon réhabilité.

d) transplantation pulmonaire selon la technique usuelle, prise en charge anesthésique, chirurgicale, réanimatoire et pneumologique inchangée par rapport à une transplantation conventionnelle.

Résultats attendus : Augmentation du nombre de greffons transplantés et ainsi diminution du temps d'attente sur liste de transplantation.

[Retour tableau](#)

Année: 2014

## Etude de l'immunité Natural Killer au cours des infections à CMV après transplantation pulmonaire

SAUCE Delphine - INSERM

[Retour tableau](#)

### Résumé

Contexte : La transplantation pulmonaire est actuellement une option thérapeutique privilégiée dans certaines affections respiratoires chroniques au stade d'évolution terminale comme la mucoviscidose, l'emphysème et la fibrose pulmonaire. Le rejet est l'une des principales complications de la greffe pulmonaire et compromet à long terme la survie des patients.

L'implantation d'un nouvel organe (greffon) dans un organisme impose un traitement immunosuppresseur afin de prévenir son rejet. Mais ce traitement favorise la survenue d'infection potentiellement grave avec des microorganismes opportunistes tels que le cytomégalovirus (CMV). Le CMV appartient à la famille des herpes virus et infecte plus de la moitié de la population adulte. Chez le sujet immunocompétent, l'infection à court terme est le plus souvent bénigne et asymptomatique. Par contre, chez les immunodéprimés (tels que les transplantés) l'infection peut conduire à des manifestations cliniques sévères. Or, la greffe pulmonaire est la greffe d'organe solide la plus à risque d'infection/maladie CMV et plusieurs études suggèrent une association entre le rejet et l'infection à CMV et un rôle de l'infection à CMV dans la genèse du rejet.

Objectifs : Nous souhaitons nous intéresser à l'implication des mécanismes d'immunité antivirale vis à vis de CMV (mettant en jeu les cellules Natural Killer) dans le rejet aigu de greffe pulmonaire chez l'homme. En effet, les cellules NK, qui représentent 5% à 15% des lymphocytes périphériques, participent aux réponses immunitaires innées contre les cellules tumorales ou infectées par des virus. Contrairement aux cellules T, les cellules NK peuvent tuer leur cible très rapidement. Leur rôle au cours des infections a été récemment mis en exergue dans différents modèles (Hépatite B/ C, Chikungunya) où une prolifération forte de cellules NK était observée post-infection. L'hypothèse de notre travail est que les cellules NK jouent un rôle dans le contrôle de la réactivation à CMV chez les patients ayant subi une transplantation pulmonaire. L'objectif de ce projet sera d'étudier la réponse immune anti-virale NK au cours d'une réactivation du CMV chez ces patients afin de mettre en évidence un rôle des cellules NK dans le contrôle de ces infections, rôle qui est souvent cité, mais qui n'a encore jamais été décrit in vivo chez des patients ayant subi une transplantation d'organe solide.

Methodologie : Les échantillons sanguins de 46 patients adultes transplantés à l'hôpital Foch ont été collectés et repartis en 3 groupes selon le risque attendu d'évènement CMV :

Groupe 1 (N=17): à fort risque d'événements cliniques CMV incluant les patients [D+/R-].

Groupe 2 (N=18): à risque modéré d'événements cliniques CMV incluant les patients [D-/R+] ou [D+/R+].

Groupe 3 (N=11): à faible risque d'événements cliniques CMV avec les patients [D-/R-].

A partir de ces différents prélèvements, une étude ex vivo des cellules NK circulants sera menée aussi bien pour déterminer leur phénotype que leur fonction. Cette approche sera complétée par une étude in vitro des cellules NK vis-à-vis des cellules infectées par le CMV.

Résultats attendus : Une étude récente effectuée dans le cadre des greffes de cellules souches hématopoïétiques montre que les « cellules NK mémoires » induites par le CMV pourraient avoir un rôle dans le contrôle du rejet clinique et des infections chez ces patients après transplantation. Ceci reste à vérifier dans le contexte de transplantation d'organe solide tel que les poumons.

## Résultats

Bayard, Charles, Hélène Lepetitcorps, Antoine Roux, Martin Larsen, Solène Fastenackels, Virginie Salle, Vincent Vieillard, et al. 2016. « Coordinated Expansion of Both Memory T Cells and NK Cells in Response to CMV Infection in Humans ». *European Journal of Immunology* 46 (5): 1168-79.

[Retour tableau](#)

Année: 2015

## Définition et contrôle de l'inflammation microvasculaire au cours du rejet aigu tumoral en transplantation cardiaque : nouvelles cibles cellulaires et moléculaires

**CHARREAU Béatrice** - INSERM UMR, Institut transplantation et recherche en transplantation, CHU Nantes

[Retour tableau](#)

### Résumé

Le rejet humoral aigu survient précocement dans 6 à 10% des transplantations cardiaques. Ce rejet est un facteur de risque important pour le développement d'une vasculopathie du greffon et d'un rejet humoral chronique; il est associé à long terme à une baisse de survie du greffon et du patient transplanté. En transplantation cardiaque, le rejet humoral aigu se caractérise par une inflammation microvasculaire, une altération des cellules endothéliales et un infiltrat macrophagique intravasculaire. Les anticorps dirigés contre les antigènes HLA du donneur (DSA), l'activation du complément et la réponse inflammatoire sont les principaux effecteurs du rejet humoral. A ce jour, il n'existe pas de traitement dédié ni de marqueur histologique fiable du rejet humoral aigu. Nos travaux récents montrent que l'activation des cellules endothéliales favorise une interaction entre cellules endothéliales du greffon et les monocytes circulants qui va orienter la polarisation des macrophages vers un profil proinflammatoire de type M1. Nous avons identifié la voie de signalisation Notch et l'IL-6 comme médiateurs de cette polarisation. L'étude de biopsies de greffons cardiaques nous a permis de montrer une forte régulation d'ADAM10 et du ligand de Notch Dll4 dans les cellules endothéliales et les macrophages en contact dans les capillaires au cours de rejet humoral aigu. Ces résultats suggèrent que la polarisation des macrophages M1 est associée au rejet et indiquent que Dll4 et l'IL-6 participent à cette polarisation.

L'objectif de ce projet de caractériser in situ dans des biopsies de greffons les populations macrophagiques intravasculaires associées au rejet humoral aigu (pAMR2 selon la classification de Banff) au moyen de marqueurs spécifiques des populations M1 et M2. Nous utiliserons des modèles cellulaires de coculture de cellules endothéliales issues de patients transplantés cultivés avec des monocytes allogéniques purifiés (CD14+) et des modèles de différenciation de macrophages pour confirmer l'importance de du ligand Dll4 et de l'IL-6 dans la polarisation des macrophages M1. L'utilisation d'anticorps thérapeutiques bloquants Dll4 et l'IL6R (demcizumab and tolcilizumab) pour prévenir la polarisation sera évaluée in vitro. La contribution des DSA et du complément dans l'activation de la voie Notch et la polarisation des M1 sera analysée dans des modèles cellulaires en préincubant les cellules endothéliales avec le sérum des patients et des fragments du complément. Enfin, l'ensemble des informations obtenues avec ces 3 approches sera utilisé pour évaluer la pertinence de nouveaux marqueurs de la voie Notch et de la différenciation des macrophages pour le diagnostic du rejet humoral aigu en transplantation cardiaque. A terme ce projet pourrait établir les bases pour développer des outils thérapeutiques (anticorps bloquants bivalents) et diagnostiques (nouveaux marqueurs histologiques) pour une meilleure détection et prévention du rejet humoral aigu et de ses conséquences.

### Résultats

Pagie, Sylvain, Nathalie Gérard, et Béatrice Charreau. 2018. « Notch signaling triggered via the ligand DLL4 impedes M2 macrophage differentiation and promotes their apoptosis ». Cell Communication and Signaling 16 (1): 4.

[Retour tableau](#)

Année: 2015

## Anticorps anti-HLA de classe II spécifiques du donneur d'organe : détection et rôle pathogène de HLA-DQ

TAUPIN Jean-Luc - CNRS UMR 5164, Université de Bordeaux

[Retour tableau](#)

### Résumé

Objectifs. L'immunisation de novo d'un receveur contre le donneur est plus fréquemment dirigée contre HLA-DQ, en transplantation rénale, cardiaque et pulmonaire. Dans un travail financé par l'ABM (AO 2013) et mené sur un groupe de 45 biopsies de greffon effectuées chez des greffés pulmonaires pour suspicion d'évènement immunologique, nous avons retrouvé ces anticorps anti-donneur (DSA) anti-DQ attachés au greffon, après élution selon la procédure décrite dans notre travail récent pour le rein (Bachelet et al, Am J Trans 2013). Les DSA anti-DQ sont donc pathogènes, alors que DQ est peu considéré dans l'allocation des greffons. De plus, peu d'informations sont disponibles sur l'expression et les effets médiés par HLA-DQ (hors présentation de peptides), la presque totalité des travaux faits sur la classe II se limitant à HLA-DR, considéré peut-être à tort comme représentatif. Pour étudier la molécule DQ dans le contexte d'une immunisation anti-DQ du receveur, nous proposons les objectifs spécifiques (OS) suivants :

OS1 : niveau d'expression membranaire (sur lymphocyte B, la cellule du crossmatch, et sur cellule endothéliale, la première cible des DSA du receveur)

OS2 : comparaison des crossmatches en lymphocytotoxicité et cytométrie en flux, avec le test luminex « single antigen »

OS3 : mécanismes d'activation du complément, régulation membranaire et distribution membranaire de DQ

OS4 : affinité et concentration des DSA anti-DQ détectés dans le sérum et élués ou non de la biopsie

OS5 : impact du polymorphisme des deux chaînes de DQ sur les propriétés fonctionnelles des DSA anti-DQ (coopération entre épitopes cibles).

Les OS1 à 3 sont indépendants d'un organe et compareront HLA-DR, DQ et DP. Les OS4 et 5 cibleront DQ en greffe pulmonaire (sérum et biopsies).

Résultats attendus. Une expression inférieure, et peut-être une distribution membranaire différente, de DQ par rapport à DR et DP suggérerait des capacités fonctionnelles différentes de DQ notamment vis-à-vis du complément, et le besoin d'adapter l'interprétation des tests de crossmatch et de « single antigen » en fonction de l'antigène pour estimer le risque immunologique. Une affinité et/ou concentration pondérale plus élevée des DSA anti-DQ devrait favoriser leur liaison au greffon, donc la possibilité de les en éluer, expliquant leur pathogénicité élevée. Deux DSA différents dirigés contre des épitopes distincts du même antigène devraient disposer de fonctions biologiques exacerbées.

Méthodologie.

OS1 : cytométrie en flux de DR, DQ et DP sur cellules B (donneurs d'organe) et endothéliales de différents organes et tissus.

OS2 : étude rétrospective des crossmatch pré-greffe positifs expliqués par un seul DSA de classe II, identifiés au CHU de Bordeaux, et au Laboratoire d'histocompatibilité du CHU Saint-Louis.

OS3 : marquages membranaires sur cellules B et endothéliales des facteurs du complément (C1q, C3d, C4d), incubées avec des anti-classe II. Etude des régulateurs membranaires du complément (clivage enzymatique, rôle des microdomaines lipidiques), distribution membranaire (microscopie confocale)

OS4 et OS5 : résonance plasmonique de surface (Biacore) avec des molécules HLA-DQ purifiées.

## Résultats

Courant, Maxime, Jonathan Visentin, Gabriel Linares, Valérie Dubois, Sébastien Lepreux, Gwendaline Guidicelli, Olivier Thauvat, Pierre Merville, Lionel Couzi, et Jean-Luc Taupin. 2018. « The Disappointing Contribution of Anti-Human Leukocyte Antigen Donor-Specific Antibodies Characteristics for Predicting Allograft Loss ». *Nephrology Dialysis Transplantation* 33 (10): 1872-1872.

Cross, Amy R., Julien Lion, Karine Poussin, Maureen Assayag, Jean-Luc Taupin, Denis Glotz, et Nuala Mooney. 2019. « HLA-DQ alloantibodies directly activate the endothelium and compromise differentiation of FoxP3high regulatory T lymphocytes ». *Kidney International* 96 (3): 689-98.

Visentin, Jonathan, Laetitia Minder, Jar-How Lee, Jean-Luc Taupin, et Carmelo Di Primo. 2016. « Calibration free concentration analysis by surface plasmon resonance in a capture mode ». *Talanta* 148 (février): 478-85.

VISENTIN, Jonathan, Carmelo DI PRIMO, et Jean-Luc Taupin. 2017. Procédé de détermination des concentrations actives et/ou des constantes cinétiques d'interaction dans des échantillons biologiques complexes en résonance plasmonique de surface. World Intellectual Property Organization WO2017168083A1, filed 28 mars 2017, et issued 5 octobre 2017.

[Retour tableau](#)

Année: 2015

## Thérapie cellulaire cardiaque : capacités cardiogéniques de cellules progénitrices exprimant l'Aldéhyde Déshydrogénase

VILQUIN Jean-Thomas - Centre recherche en myologie, Unité UPMC/INSERM, CNRS, AIM, Paris

[Retour tableau](#)

### Résumé

Contexte et objectifs : La thérapie cellulaire est développée en vue du traitement de certaines formes d'insuffisances cardiaques. Notre groupe a développé des expérimentations cliniques et/ou précliniques basées sur l'utilisation de myoblastes, puis de cellules souches embryonnaires, mais les résultats cliniques mitigés ont souligné à la fois les limitations intrinsèques des cellules étudiées, et le manque d'efficacité de certaines voies d'administration. Ces constats nous ont amenés à rechercher de nouvelles catégories de cellules progénitrices, et à élaborer de nouvelles stratégies de délivrance. Nous avons identifié une nouvelle population cellulaire au sein des tissus musculaires chez la Souris, le Singe, le Chien et l'Homme, sur la base de l'expression fonctionnelle de l'aldéhyde déshydrogénase (ALDH). Cette enzyme est un marqueur de cellules souches, elle détoxifie les aldéhydes en acides carboxyliques et confère aux cellules de meilleures capacités de survie, et participe à la formation de l'acide rétinolique. Récemment, nous avons pu orienter les capacités de différenciation cardiaque de cellules ALDH+ in vitro et in vivo (après transplantation). Ces cellules, d'origine adulte, pourraient être utilisées selon un mode autologue. En parallèle, nous avons développé une méthodologie de préparation de feuillets cellulaires, à déposer sur la zone cardiaque à traiter. Nous proposons donc d'étudier une démarche d'ingénierie cellulaire à l'aide des cellules ALDH+ que nous avons identifiées. Nos objectifs sont d'évaluer et d'optimiser les rendements et capacités cardiogéniques des populations de cellules ALDH+ in vitro, d'abord dans des milieux dédiés puis sous forme de feuillets cellulaires, puis d'évaluer leur capacité à s'intégrer au tissu cardiaque dans des modèles animaux.

Méthodologies : Les cellules seront extraites de biopsies musculaires de Primates (Singes, Humains) et triées sur l'expression de l'ALDH. In vitro, la cinétique de la cardiogénèse sera analysée et optimisée dans des milieux dédiés. Les cellules seront caractérisées sur le plan phénotypique (cytométrie de flux), et moléculaire (RT-PCR) aux différents stades de la différenciation et de la production. Les cellules seront cultivées sur un support thermosensible permettant d'obtenir des feuillets détachables. In vivo, la cardiogénèse sera évaluée par dépôt épicaudique dans des souris immunodéficientes. L'explantation des coeurs permettra l'analyse immuno-histochimique de l'efficacité d'intégration tissulaire. Des contrôles cellulaires seront étudiés en parallèle (fraction cellulaire ALDH-, myoblastes squelettiques de culture primaire, cellules iPS induites).

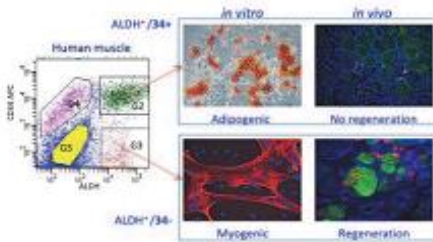
Résultats attendus : Ce projet pourrait offrir une nouvelle population de progéniteurs, dont il est possible d'envisager une utilisation autologue. En perspective, des modèles animaux de plus grande taille (Chiens, Moutons) pourront être utilisés en vue de nouveaux développements cliniques.

### Résultats

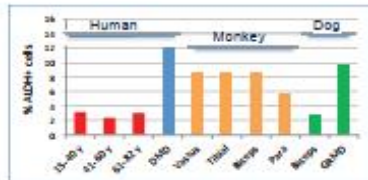
Etienne, Jessy, Pierre Joanne, Cyril Catelain, Stéphanie Riveron, Alexandra Clarissa Bayer, Jérémy Lafable, Isabel Punzon, Stéphane Blot, Onnik Agbulut, et Jean-Thomas Vilquin. 2020. « Aldehyde Dehydrogenases Contribute to Skeletal Muscle Homeostasis in Healthy, Aging, and Duchenne Muscular Dystrophy Patients ». Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle ahead of print (n/a).

Poster

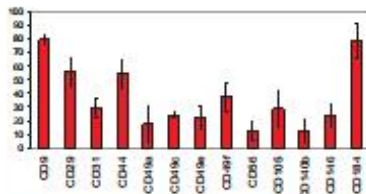
Thérapie cellulaire cardiaque : capacités cardiogéniques de cellules progénitrices exprimant l'Aldéhyde Déshydrogénase



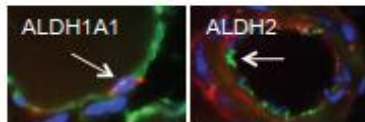
Les aldéhydes déshydrogénases sont impliquées dans le métabolisme des aldéhydes et la production de l'acide rétinolique. Elles peuvent être identifiées à l'aide du réactif Aldéfluor. Elles sont un marqueur de cellules souches, et identifient des populations au sein des tissus musculaires squelettiques et cardiaques, qui présentent des capacités particulières de différenciation (exemple les ALDH+/CD34- sont myogéniques et régénératrices).



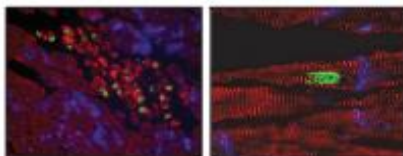
Elles sont présentes dans toutes les espèces animales (Homme, Singe, Chien, Souris), leur proportion tissulaire varie peu avec l'âge et la localisation anatomique. En revanche, leur proportion peut changer fortement dans certains contextes pathologiques entraînant un remaniement tissulaire.



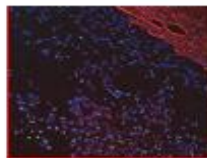
De nombreuses sous-populations peuvent être caractérisées par l'analyse de la co-expression de nombreux marqueurs. Ces sous-populations peuvent présenter des capacités fonctionnelles très différentes, voire opposées, et peuvent réagir différemment à des traitements de conditionnement (myogénique, cardiogénique, adipogénique...).



La famille des ALDH compte 19 isoenzymes chez l'Homme. L'analyse histologique permet d'associer des isoenzymes à différents types cellulaires (cellules musculaires, endothéliales, neurales, fibrogéniques...).



Certains traitements favorisent une différenciation orientée, par exemple vers la cardiogénèse. Les cellules implantées dans un myocarde peuvent se différencier, dans certaines proportions, en cellules de type cardiaque (ici leur noyau est en vert). Ces transplantations sont encore assez peu efficaces.



Pour augmenter l'efficacité des implantations, les cellules traitées peuvent être déposées sous forme de feuillet cellulaire, ou associées à des substrats, sous forme de patch (fibrine, hydrogel...). Les limitations actuelles tiennent aux capacités migratoires réduites en dehors du feuillet vers le cœur (en rouge), et à l'absence de vascularisation.



**Année: 2016**

## Grading de l'inflammation microvasculaire au cours du rejet humoral pour le suivi du patient transplanté cardiaque: validation moléculaire et étude de reproductibilité

**DUONG VAN HUYEN Jean-Paul** - Service Ana-path - Hôpital Necker

[Retour tableau](#)

### Résumé

#### Etat de l'art

Le rejet d'allogreffe médié par les anticorps (AMR), dont une des lésions caractéristiques est l'inflammation microvasculaire, présente des difficultés diagnostiques. Des travaux récents ont suggéré que la confrontation d'une analyse moléculaire du greffon rénal et de l'histologie conventionnelle permettait une amélioration du diagnostic.

#### Objectifs

Notre objectif est donc:

- de scorer de manière semi-quantitative l'inflammation microvasculaire (score IAMC) dans les biopsies endomyocardiques (BEM),
- de comparer ce score aux lésions qui constituent le "gold standard" actuel en pathologie de la transplantation cardiaque,
- de comparer ce score aux profils d'expression de gènes reflétant le rejet médié par les anticorps (Pathogenesis Based Transcripts ou PBTs) dans les biopsies scorées
- de déterminer la reproductibilité du score en multi-centrique

#### Méthodologie et résultats préliminaires

Les lames d'histologie, les BEM congelées et les données médicales de 80 patients transplantés cardiaques présentant un diagnostic d'AMR basé sur la classification de consensus 2013 de l'ISHLT International Society for Heart and Lung Transplantation, ou ne présentant pas d'AMR (groupe contrôle) seront collectées de manière rétrospective dans les centres participants.

Les lames virtuelles de ces BEM seront centralisées sur un serveur pour une relecture via le web par les différents pathologistes impliqués et un score IAMC leur sera attribué.

Le score IAMC sera comparé aux PBTs et aux lésions standards de rejet selon la classification ISHLT. En parallèle la reproductibilité du score sera évaluée sur une cohorte test et une cohorte de validation.

Nos résultats préliminaires suggèrent que les PBTs sont exprimés de manière incrémentale lors de l'augmentation du score. L'expression de gènes reflétant le rejet médié par les anticorps serait donc associée au score IAMC, suggérant que le score IAMC pourrait être un outil de valeur pour diagnostiquer l'AMR de manière plus fine.

#### Résultats attendus

Nous nous attendons, au vu des résultats préliminaires, à ce que l'augmentation de l'inflammation microvasculaire reflétée par le score IAMC soit appuyée par les données d'expression génique dans les BEM. L'évaluation du score par des pathologistes expérimentés ne présente pas de difficulté particulière.

Ce score représente un outil nécessaire et attendu par la communauté des pathologistes et pourra contribuer à l'amélioration du diagnostic et au suivi du patient en transplantation cardiaque.

## Résultats

Adam, Nicolas, Guillaume Coutance, Pierre-Julien Vially, Fanny Drieux, Philippe Ruminy, Ahmad Abdel Sater, Claire Toquet, et al. 2020. « Reverse transcriptase multiplex ligation-dependent probe amplification in endomyocardial biopsies for the diagnosis of cardiac allograft rejection ». *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 39 (2): 115-24.

Calvani, Julien, Megumi Terada, Corinne Lesaffre, Maëva Eloudzeri, Baptiste Lamarthée, Carole Burger, Claire Tinel, et al. 2020. « In Situ Multiplex Immunofluorescence Analysis of the Inflammatory Burden in Kidney Allograft Rejection: A New Tool to Characterize the Alloimmune Response ». *American Journal of Transplantation* 20 (4): 942-53.

Coutance, Guillaume, Ilyass Zouhry, Maud Racapé, Fanny Drieux, Pierre-Julien Vially, Philippe Rouvier, Arnaud François, et al. 2022. « Correlation Between Microvascular Inflammation in Endomyocardial Biopsies and Rejection Transcripts, Donor-Specific Antibodies, and Graft Dysfunction in Antibody-Mediated Rejection ». *Transplantation* 106 (7): 1455-64.

[Retour tableau](#)

**Année: 2017**

## Evaluation et amélioration de la qualité de préservation du greffon cardiaque avant transplantation

**FERRERA René** - INSERM UMR1060 CARMEN

Lyon

[Retour tableau](#)

### Résumé

#### CONTEXTE

Notre équipe a inventé un nouveau procédé de transport par perfusion hypothermique des greffons qui permettrait de multiplier par 4, la durée de préservation du cœur. Ce dispositif, nommé INOVAGRAFT, a fait l'objet de 2 brevets et a été récompensé par le prix de l'innovation INSERM 2015.

#### OBJECTIF

Notre objectif est maintenant de d'optimiser INOVAGRAFT en lui associant des méthodes innovantes et non-invasives d'évaluation de la viabilité du greffon. En effet, quel chirurgien transplanterait un cœur prélevé arrêté ou ayant subi une longue période d'ischémie froide, sans connaître précisément le potentiel de viabilité de l'organe?

Nos objectifs sont triples:

- 1- Prolonger le temps de préservation du greffon cardiaque par l'utilisation d'Inovagraft.
- 2- Optimiser les conditions de survie des cœurs prélevés arrêtés par l'utilisation d'Inovagraft.
- 3- Développer une méthode originale et non invasive d'évaluation de la viabilité du greffon par l'analyse:
  - 3a- des résistances coronaires (mesure par mico-débitométrie et imagerie US par microbulles),
  - 3b- de l'élasticité du tissu myocardique (mesure par élastographie ultrasonore et IRM),
  - 3c- de l'œdème et de la perméabilité vasculaire (imagerie par Scanner Spectral X et IRM de diffusion),
  - 3d- du statut énergétique du greffon (mesure par spectroscopie RMN).

A noter que le procédé Inovagraft a été conçu pour être IRM, US et rayonnement X compatible.

#### METHODOLOGIE

Pour nous rapprocher au mieux des conditions cliniques, nous mènerons nos travaux chez le cœur ex-vivo de porc. Trois études sont programmées évaluant :

- 1- L'efficacité de la perfusion hypothermique longue durée (20H à 4°C) par INOVAGRAFT, versus l'immersion. N= 40 (5 groupes de 8 cœurs).
- 2- L'efficacité d'INOVAGRAFT pour protéger les cœurs arrêtés (= cœurs DCD, c'est-à-dire prélevés non battants après arrêt circulatoire). N= 64 (8 groupes de 8 cœurs).
- 3- La batterie de tests originaux (imagerie IRM, ultrasonore et spectral X, mesure des résistances coronaires en temps réel ...) destinés à évaluer la viabilité du greffon pendant la conservation hypothermique.

#### RESULTATS ATTENDUS

Plusieurs papiers scientifiques sont attendus en relation avec les 3 études précédentes. Ces résultats associés à notre nouveau prototype Inovagraft faciliteront de futures collaborations industrielles. Par ailleurs, notre laboratoire de recherche fondamentale (UMR1060) s'articule autour du CIC (centre investigation clinique) de l'hôpital cardiologique de Lyon et de l'IHU (Institut Hospitalo-Universitaire) «

OPERA » (Organ Protection and RepAcement), facilitant le transfert des savoir-faire issus des travaux expérimentaux, en direction de la pratique clinique.

Au final, le transfert du procédé INOVAGRAFT en clinique humaine permettra de :

- Prolonger la durée de préservation du cœur d'un facteur 4 (voir davantage), permettant des échanges de greffons, au moins à l'échelle européenne.
- Augmenter le nombre de greffons, par l'utilisation des cœurs marginaux ou prélevés non battants.
- Valider une méthode d'évaluation fiable et non-invasive de la viabilité du greffon, applicable sur cœur battant comme sur cœur arrêté.

[Retour tableau](#)

**Année: 2017**

## Intérêt diagnostique et pronostique de la présence d'anticorps spécifiques du donneur intra-greffe dans le rejet humoral en transplantation pulmonaire

**HIRSCHI Sandrine** - Pneumologie Hôpital Civil Strasbourg

[Retour tableau](#)

### Résumé

Introduction :

Le rejet humoral (RH) est associé à un risque accru de dysfonction du greffon et de décès en transplantation pulmonaire. Cependant, malgré les récentes avancées diagnostiques, qui définissent les aspects histologiques les plus fréquents de RH en greffe pulmonaire et soulignent l'importance d'une approche multidisciplinaire, l'absence de critère de certitude et l'existence de facteurs confondants expliquent le fréquent retard diagnostique et le mauvais pronostic. Dans une étude récente, J Visentin et al. a montré que la présence d'anticorps antiHLA spécifiques du donneur (DSA) intragreffe, est corrélée à un risque accru de perte de greffon.

Dans une étude préliminaire sur 11 patients greffés du poumon avec DSA circulants, nous avons trouvé une bonne corrélation entre la présence de DSA intragreffe (gDSA) et le diagnostic de RH, établi d'après le nouveau consensus international. Le but de cette étude est d'évaluer, chez des patients greffés pulmonaires avec DSA circulants, la performance diagnostique des gDSA dans le RH et leur impact pronostique sur l'évolution du greffon.

Patients et méthodes :

Etude prospective multicentrique nationale avec participation des 5 centres français les plus actifs en greffe pulmonaire.

Critères d'inclusion :

Patients greffés pulmonaires avec présence de DSA circulants > 1000 de maximum intensity fluorescence (MFI), soit présents à un mois post-greffe (biopsies systématiques), soit apparus ultérieurement mais persistants plus d'un mois (biopsies pour évènement). Les patients déjà traités pour rejet humoral seront exclus.

Méthodes :

Réalisation d'une fibroscopie bronchique avec biopsies transbronchiques et congélation de prélèvement pour étude histologique standard, avec double lecture par un centre expert suivant une grille de réponse, recherche de dépôts de C4d et recherche gDSA sur un éluât obtenu à partir des biopsies congelées (technique Luminex Single Antigen). Recueil à l'inclusion de l'histoire clinique, du volume expiré maximal en 1 seconde (VEMS), de l'imagerie, des caractéristiques des DSA. Le diagnostic RH (subclinique ou clinique, possible, probable ou certain) sera retenu ou pas, après relecture histologique experte et discussion multidisciplinaire, selon le récent consensus international ISHLT 2016. Le traitement sera décidé par le clinicien en charge du patient. Le suivi clinique et fonctionnel respiratoire sera assuré à 3, 6 et 12 mois après l'inclusion.

[Retour tableau](#)

Année: 2017

## Intérêt d'un protocole de soins intensifs pour prolonger la perfusion ex vivo des greffons pulmonaires et développer des stratégies thérapeutiques innovantes

**MORDANT Pierre** - INSERM U1152 Physiopath et épidémiologie des maladies respiratoires

Bichat

[Retour tableau](#)

### Résumé

**Objectifs.** Les patients atteints d'insuffisance respiratoire terminale et candidats à une transplantation pulmonaire sont confrontés à un risque de mortalité sur liste lié à une pénurie de greffons pulmonaires. Les greffons présentant des lésions fonctionnelles par atélectasie ou oedème hémodynamique peuvent bénéficier d'une évaluation ex vivo de 4 heures validée en clinique, et pourraient bénéficier d'un traitement par thérapie génique par l'IL-10 au cours d'une perfusion ex vivo de 12 heures étudiée en préclinique. De même, les greffons présentant des lésions tissulaires par inhalation ou oedème lésionnel pourraient bénéficier de stratégies thérapeutiques innovantes par thérapie cellulaire, à la condition de pouvoir l'administrer au cours d'une perfusion ex vivo prolongée pendant au moins 24 heures. Notre objectif est de mettre au point un protocole de perfusion ex vivo des greffons pulmonaires qui permette le maintien de l'intégrité de l'organe et la stabilité de son fonctionnement pendant 24 heures consécutives.

**Méthodologie.** Le protocole de perfusion ex vivo de Toronto ne prévoit pas la correction des troubles hydroélectrolytiques du perfusé, ce qui conduit à l'apparition d'une hyperosmolalité majeure compromettant l'intégrité de la barrière alvéolo-capillaire et la stabilité de la perfusion ex vivo au delà de la 12<sup>ème</sup> heure. Nous émettons l'hypothèse qu'une réanimation hydroélectrolytique du perfusé pourrait contribuer à un allongement de la période de stabilité de la perfusion et autoriser la transplantation de l'organe après 24 heures de perfusion ex vivo. Nous testerons cette hypothèse sur un modèle de greffons pulmonaires porcins perfusés ex vivo pendant 24 heures puis transplantés et perfusés in vivo pendant 4 heures. Les animaux seront répartis de façon aléatoire entre les groupes. Dans le groupe contrôle (n=6), la perfusion ex vivo suivra le protocole de Toronto. Dans le groupe expérimental (n=6), le protocole de Toronto sera complété par une correction du contenu hydroélectrolytique du perfusé. Le critère de jugement principal sera la PaO<sub>2</sub> dans les veines pulmonaires des greffons mesurés en aveugle du groupe après transplantation et 4 heures de reperfusion in vivo.

**Résultats attendus.** Sur le contenu hydroélectrolytique du perfusé, nous attendons dans le groupe contrôle une augmentation rapide de l'osmolalité associée à une chute du pH et de la concentration en glucose ; et dans le groupe expérimental une stabilité de ces paramètres. La concentration de lactates sera probablement élevée dans les deux groupes. Sur la fonction du greffon pendant la perfusion ex vivo, nous attendons dans le groupe contrôle une stabilité de tous les paramètres physiologiques (oxygénation, compliance, résistances vasculaires) pendant les 12 premières heures puis une dégradation pendant les 12 heures suivantes ; et dans le groupe expérimental une stabilité de ces paramètres. Sur la fonction du greffon à l'issue de la transplantation et de 4 heures de reperfusion in vivo, nous attendons dans le groupe contrôle une dysfonction majeure du greffon (PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub><200mmHg) ; et dans le groupe expérimental une fonction adéquate (PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>>300mmHg). Ces différences sont également attendues sur les critères de jugement secondaires (apoptose, inflammation).

[Retour tableau](#)

Année: 2017

## Impact clinique de la concentration et de l'affinité des anticorps anti-HLA DQ dirigés contre le donneur en transplantation pulmonaire

**VISENTIN Jonathan** - ImmunoConcept UMR CNRS 5164

Bordeaux

[Retour tableau](#)

### Résumé

En transplantation pulmonaire, l'un des traitements de référence de l'insuffisance respiratoire chronique, la production d'anticorps dirigés contre le donneur (DSA) dirigés contre les molécules HLA-DQ est associée à une dysfonction chronique du greffon (CLAD). Actuellement, la méthode la plus sensible et résolutive utilisée pour détecter les DSA sériques est le Single Antigen Luminex (SAG). La valeur semi-quantitative fournie par le SAG estime la « force » des DSA mais n'est pas parfaitement associée au développement d'une CLAD.

Nous avons développé une nouvelle méthode, utilisant la résonance plasmonique de surface (SPR), pour mesurer la concentration, les constantes cinétiques ( $k_a$ ,  $k_d$ ) et l'affinité ( $KD$ ) des DSA anti-DQ. Notre hypothèse est que ces paramètres quantitatifs des DSA, au moment de leur apparition, constitueraient des biomarqueurs plus finement associés au développement d'une CLAD chez les transplantés pulmonaires. Il est également possible que la façon dont ils évoluent (stabilité, augmentation ou diminution) avec le temps ait un impact sur la pathogénicité des DSA.

L'objectif principal de notre étude sera de comparer les paramètres quantitatifs des DSA de novo anti-HLA DQ, au moment de leur découverte, entre les patients transplantés pulmonaires développant une CLAD durant les 2 ans qui suivent et ceux n'en ayant pas.

Les objectifs secondaires seront d'évaluer l'association entre les paramètres quantitatifs des DSA et la perte du greffon, décrire leur évolution et son association avec la survenue d'une CLAD ou d'une perte du greffon, puis évaluer leur corrélation avec la MFI SAG.

Il s'agira d'une étude épidémiologique observationnelle, multicentrique, longitudinale, de type cohorte historique, à visée pronostique. La population sera constituée de 122 patients ayant bénéficié d'une transplantation pulmonaire au sein du CHU de Bordeaux et de 3 services de transplantation pulmonaire de la région parisienne (Hôpitaux Marie Lannelongue, Foch et Bichat), et ayant développé des DSA anti-DQ de novo. Parmi eux, 106 pourront faire l'objet d'une mesure dans un sérum supplémentaire dans les 6 à 18 mois suivant l'apparition des DSA, pour un total de 228 échantillons à étudier.

Si la concentration et/ou les constantes cinétiques d'interaction des DSA avec leur cible HLA sont associées à la survenue d'une CLAD, nous aurons alors identifié de nouveaux biomarqueurs pronostiques non invasifs du rejet humoral en transplantation pulmonaire. Ceci justifierait le développement d'un kit de mesure utilisable en routine hospitalière et la mise en place d'études de cohorte prospective et interventionnelles dans lesquelles serait évalué l'intérêt de l'intégration de ces nouveaux biomarqueurs dans le suivi et la prise en charge des patients.

[Retour tableau](#)

**Année: 2018**

## Etude de la transglutaminase 2 dans la dysfonction chronique du greffon pulmonaire

**TISSOT Adrien** - Centre de Recherche en Transplantation et Immunologie (CRTI) – UMR 1064 (Inserm/ Université de Nantes)

[Retour tableau](#)

### Résumé

La survie à long terme de la transplantation pulmonaire reste limitée par le rejet chronique ou dysfonction chronique du greffon pulmonaire (chronic lung allograft dysfunction, CLAD). Notre équipe a développé un modèle ex vivo pour étudier les mécanismes cellulaires conduisant au CLAD. Les cellules épithéliales bronchiques de patients sont exposées au TGF- $\beta$ 1 et à des lymphocytes T allogéniques induisant une transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) associée à une forte production de la métallo-protéinase MMP-9 (Pain et al. Am J Transpl 2016). La production de MMP-9 sérique chez les patients greffés semble être un marqueur précoce du CLAD.

L'enzyme ubiquitaire transglutaminase 2 (TG2) présente de nombreuses fonctions dont celle de stabiliser la matrice extracellulaire en catalysant la polymérisation des protéines la constituant. La TG2 est également impliquée dans la fibrose pulmonaire idiopathique et son expression est associée à l'expression de MMP-9 dans plusieurs pathologies.

L'objectif de ce projet est donc d'étudier le rôle de la TG2 dans la physiopathologie du CLAD et son influence sur la production de MMP-9 dans le modèle ex vivo.

Le ciblage de la TG2 sera également testé dans le contexte du CLAD ex vivo.

Les résultats attendus sont : une réduction du phénomène de transition épithélio-mésenchymateuse et une diminution de la sécrétion de MMP-9 par les cellules épithéliales bronchiques lorsque les cellules seront traitées avec un inhibiteur chimique de la TG2 et des siRNA ciblés. Au contraire la surexpression de la TG2 devrait augmenter la sécrétion de MMP-9 et des phénomènes fibrosants. Mieux comprendre ces phénomènes pathologiques du CLAD est crucial dans la greffe pulmonaire. L'essai des inhibiteurs chimiques de la TG2 et la démonstration de leur efficacité ouvrira de nouvelles perspectives thérapeutiques qui permettront d'améliorer la survie des patients.

Afin de démontrer le rôle de la TG2, nous utiliserons le modèle préétabli d'exposition synergique de cellules épithéliales bronchiques à des lymphocytes T allogéniques activés et au TGF- $\beta$ 1. Nous disposons d'environ 80 lignées de cellules primaires récupérées à partir des trachées et bronches souches de donneurs pour transplantation pulmonaire. L'activité de la TG2 sera inhibée chimiquement par un inhibiteur spécifique de la TG2 et par des siRNA et sa surexpression induite par transfection. L'impact sur la TEM et la production de MMP-9 sera étudié. L'expression pulmonaire de la TG2 sera également observée sur des biopsies de patients après greffe afin de déterminer son association au CLAD.



## Transglutaminase 2 dans la dysfonction chronique du greffon pulmonaire

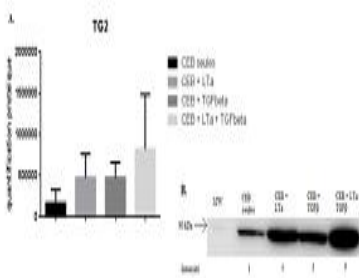
A. Tissot, M. Penhouet, B. Reucherand, N. Benkalfate, E. Durand, A. Foureau, S. Brouard, L. Berthelot  
Service de Pneumologie, CHU de Nantes, Centre de recherche en transplantation et immunologie, UMR 1064, Université de Nantes

### Introduction

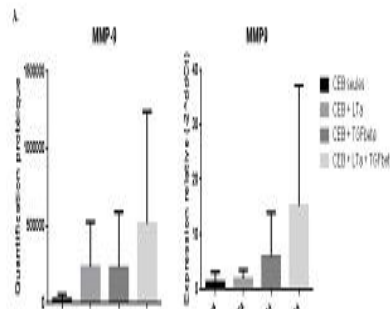
La dysfonction chronique du greffon pulmonaire (DCGP) affecte largement le pronostic à long-terme de la greffe pulmonaire. La transglutaminase 2 (TG2) est une protéine avec de multiples fonctions dont la stabilisation de la matrice extra-cellulaire et pro-inflammatoire, mécanismes importants dans la genèse de la fibrose pulmonaire dans la DCGP

### Hypothèse et modèle

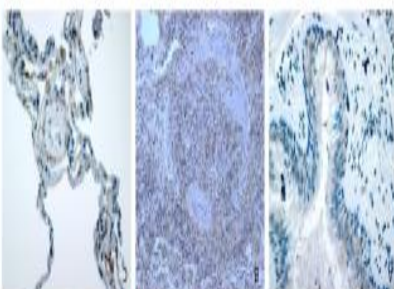
La TG2 participe à la fibrose associée à la DCGP et à la sécrétion de MMP-9 par les cellules épithéliales pulmonaires (CEB). Le modèle utilisé, préétabli par notre équipe, est celui de l'exposition synergique des CEB à des lymphocytes T allogéniques activés (LTa) et au TGF- $\beta$ . Nous avons aussi recherché la présence de la TG2 sur des biopsies pulmonaires de patients présentant une DCGP.



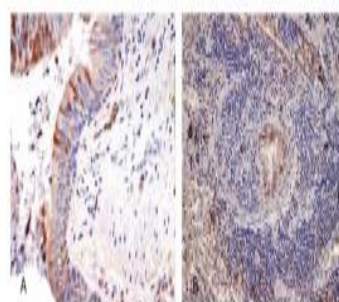
Augmentation de la production de la TG2 dans le lysat cellulaire des co-cultures CEB et LTa  
CEB: cellules épithéliales bronchiques, LTa: lymphocytes T actifs, A: quantification protéique; B: exemple de membrane Western Blot TG2.



Augmentation de la production de la MMP-9 dans le lysat cellulaire des co-cultures CEB et LTa  
CEB: cellules épithéliales bronchiques, LTa: lymphocytes T actifs, A: quantification protéique; B: expression Western



Immunohistochimie X100, anti-TG2 sur lames de poumon de patient présentant une DCGP  
Centre coloration à l'hématoxyline et éosine. Les zones en marron correspondent aux zones de marquage de TG2. A: épithélium bronchique; B: liaison de bronchiole oblitérante; C: alvéoles subpleurales cernées par un capillaire.



Immunohistochimie X100, anti-MMP-9 sur lames de poumon de patient présentant une DCGP  
Centre coloration à l'hématoxyline et éosine. Les zones en marron correspondent aux zones de marquage de MMP-9. A: épithélium bronchique; B: liaison de bronchiole oblitérante

### Conclusions

L'expression par les CEB de la MMP-9 et de la TG2 augmente lorsqu'elles sont exposées au TGF- $\beta$  et aux LTa. L'activité MMP-9 semble augmenter avec l'adjonction de LT et de TGF- $\beta$ . L'immunohistochimie sur coupes de BOS met en évidence une expression TG2 péri-vasculaire, épithéliale et alvéolaire. La TG2 et la MMP-9 semblent participer au processus de fibrose à l'œuvre dans la DCGP. Ces protéines ont le potentiel d'être des cibles thérapeutiques pour améliorer le pronostic de la DCGP

Année: 2018

## Rôle du CD31 dans la dysfonction primaire du greffon après transplantation pulmonaire

TRAN DINH Alexy - LVTS Inserm U 1148, Hôpital Bichat

[Retour tableau](#)

### Résumé

La dysfonction primaire du greffon est un œdème pulmonaire lésionnel lié à l'ischémie-reperfusion du greffon pulmonaire qui survient dans les 72h après la transplantation. Son incidence est de 41% avec une mortalité à 30 jours de 40% pour les grades sévères. Il n'existe aucun biomarqueur de routine pour le diagnostic ou le monitoring de la dysfonction primaire du greffon. Le CD31 est une glycoprotéine transmembranaire de 130 kDa présente constitutivement et uniquement à la surface des cellules à l'interface sang/vaisseau (cellules endothéliales, leucocytes, plaquettes). Cette protéine fonctionne comme un co-récepteur homophile et son engagement est essentiel pour le maintien de l'homéostasie dans la circulation. La souffrance des cellules endothéliales du greffon devrait résulter en un clivage massif et rapide du CD31 à leur surface, relargué sous une forme soluble clivée dans le plasma et entraînant une perte de ses fonctions régulatrices de l'homéostasie cellulaire et une activation des cellules endothéliales, des plaquettes et des leucocytes infiltrés dans le greffon, induisant un état pro-inflammatoire et pro-thrombotique.

Dans ce contexte, nous pensons que le clivage du CD31 peut représenter une cible biologique prometteuse, à la fois pour la compréhension et le traitement de la dysfonction primaire du greffon. Le LVTS Inserm U1148 a mis au point un test d'identification et de quantification des différentes formes solubles de CD31 dans le plasma (Brevet WO2010000756), qui pourrait être un outil original de monitoring de l'activation endothéliale, plaquettaire et leucocytaire liée à l'ischémie-reperfusion du greffon pulmonaire.

Dans le cadre d'une étude prospective monocentrique interventionnelle de catégorie 2 à risques et contraintes minimales menées sur l'hôpital Bichat, nous étudierons :

1. Le clivage endothélial du CD31 sur deux biopsies du greffon réalisées pendant la phase d'ischémie froide et de reperfusion après son implantation chez le receveur,
2. La partie clivée soluble du CD31 dans le plasma du receveur prélevé à différents temps de la chirurgie et dans les 3 jours post-opératoire en réanimation.

Le clivage du CD31 serait ensuite étudié en tant que biomarqueur de la dysfonction primaire du greffon à partir de l'analyse de données clinico-biologiques du patient en réanimation.

### Résultats

Tran-Dinh, Alexy, Quentin Laurent, Guillaume Even, Sébastien Tanaka, Brice Lortat-Jacob, Yves Castier, Hervé Mal, et al. 2022. « Personalized risk predictor for acute cellular rejection in lung transplant using soluble CD31 ». Scientific Reports 12 (octobre): 17628.

[Retour tableau](#)

**Année: 2020**

## Evaluation de la viabilité des greffons cardiaques prélevés sur donneur décédé après arrêt circulatoire contrôlé (Maastricht 3)

**GUIHAIRE Julien** - Unité Recherche et Innovation

Hôpital Marie Lannelongue

133 avenue de la Résistance

92350 LE PLESSIS ROBINSON FRANCE

[Retour tableau](#)

### Résumé

La transplantation cardiaque reste le traitement de référence de l'insuffisance cardiaque réfractaire. Cependant le nombre de greffons est limité, malgré le nombre croissant de prélèvements sur donneurs à critères élargis. Les donneurs décédés d'arrêt circulatoire contrôlé Maastricht 3 (DDAC M3) représentent un potentiel d'augmentation de l'activité de transplantation cardiaque. Le protocole français de prélèvement d'organes sur DDAC M3 n'a pas considéré initialement la possibilité de prélever le cœur chez ces donneurs. Or depuis 2014, plus de 120 transplantations cardiaques ont été réalisées dans le monde avec des greffons prélevés sur DDAC M3.

Le cœur prélevé dans ces conditions est soumis à des contraintes majeures (hypoxie, ischémie, distension). La viabilité à court terme de ce greffon doit par conséquent être systématiquement évaluée avant la transplantation. Une reperfusion au sang normothermique sur machine de perfusion cardiaque ex situ a été employée dans la majorité des cas rapportés afin d'évaluer la viabilité du greffon en se basant sur l'analyse du taux d'acide lactique circulant.

Nous souhaitons mettre en œuvre une étude de faisabilité du prélèvement cardiaque chez les DDAC M3. Cinq cœurs seront ainsi prélevés à visée scientifique en respectant le protocole français en vigueur, et leur viabilité sera évaluée sur machine de perfusion.

L'objectif principal de ce travail est de rapporter le taux d'utilisation de ces greffons établi selon les critères de viabilité myocardique.

Parmi les objectifs secondaires, nous souhaitons rapporter les délais d'ischémie chaude fonctionnelle pour le cœur, ainsi que les conditions de prélèvements des autres greffons et notamment les paramètres de fonctionnement de la circulation régionale normothermique (délai de mise en route, pression de perfusion moyenne, durée d'assistance circulatoire). Les résultats des transplantations pulmonaire, hépatique, et rénales seront étudiés (taux de non fonction primaire ou de reprise retardée de fonction).

Enfin ces cœurs DDAC M3 prélevés à visée scientifique feront l'objet d'une étude cinétique originale métabolomique qui apportera une approche translationnelle à une étude expérimentale française en cours sur la recherche de nouveaux biomarqueurs de viabilité myocardique des cœurs placés sur machine de perfusion ex vivo. Cette analyse fondamentale pour l'évaluation des greffons cardiaques soumis à une séquence d'ischémie-reperfusion prolongée n'a jamais été rapportée à ce jour. Elle pourrait ouvrir des perspectives thérapeutiques d'optimisation pharmacologique des greffons placés sur machine.

Notre étude permettrait ainsi deux perspectives majeures : d'une part l'augmentation de l'accès à la transplantation pour les patients en attente de greffe cardiaque grâce au prélèvement DDAC M3, et par ailleurs une meilleure évaluation de la viabilité myocardique par une approche métabolomique globale de la séquence ischémie-reperfusion.

## Résultats

Dang Van, Simon, Maïra Gaillard, Florent Laverdure, Jacques Thes, Jean Christophe Venhard, Mohamed Fradi, Aurélien Vallée, et al. 2021. « Ex vivo perfusion of the donor heart: Preliminary experience in high-risk transplantations ». Archives of Cardiovascular Diseases 114 (11): 715-26. <https://doi.org/10.1016/j.acvd.2021.07.003>.

[Retour tableau](#)

**Année: 2020**

## Microvésicules membranaires circulantes et alvéolaires dans la dysfonction chronique du greffon pulmonaire. Etude MIBO.

**KESSLER Romain** - INSERM, UMR 1260, Nanomédecine régénérative (RNM), Strasbourg, France

[Retour tableau](#)

### Résumé

La dysfonction chronique du greffon pulmonaire ou CLAD pour « chronic lung allograft dysfunction », dont la bronchiolite oblitérante (BOS) est la manifestation la plus fréquente, est la principale complication grevant à long terme le pronostic de la transplantation pulmonaire. Les marqueurs précoces de CLAD identifiés à ce jour sont peu spécifiques. Les Microvésicules (MVs) membranaires pourraient constituer des indicateurs précoces non invasifs de CLAD.

#### Objectifs :

Mettre en évidence, doser et caractériser les microvésicules au cours de la greffe pulmonaire dans la cohorte MIBO qui a été spécialement constituée pour cette étude, afin de permettre la mise au point d'un outil de diagnostic précoce de CLAD à travers :

- Une étude transversale du dosage et de caractérisation des MVs chez des patients greffés pulmonaires
- Une étude longitudinale du dosage et de caractérisation des MVs totales alvéolaires et circulantes chez des patients greffés pulmonaires sur 3 ans.
- Une étude de l'effet de microvésicules isolées chez des patients avec CLAD sur la transition épithélio-mésenchymateuse de cellules épithéliales bronchiques en culture.

#### Résultats attendus :

Les MVs ont un intérêt potentiel à la fois pour la compréhension des mécanismes aboutissant au CLAD et comme potentiels biomarqueurs précoces de CLAD. Le dosage et la caractérisation des MVs est accessible de façon non invasive, au cours du suivi des patients. La caractérisation des MVs au cours du CLAD devrait permettre de mieux en identifier la cause : rejet cellulaire, humoral, infection...

#### Méthodologie :

Schéma de l'étude : Etude prospective observationnelle unicentrique MIBO (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02458274). 69 patients ont été inclus (sur 60 prévus initialement dans le protocole). Un suivi longitudinal de 3 ans après greffe pulmonaire a été réalisé et le profil clinique des patients a été identifié

(clinique ; voir tableau 1). Le dosage et la caractérisation des MVs alvéolaires et plasmatiques seront réalisés à J0 (sang seul), un mois, à 1, 2 et 3 ans chez les 60 patients.

Critères de jugement :

Principal : Evolution du taux des MVs totales dans le liquide alvéolaire corrélé aux paramètres de CLAD (VEMS) évalués à 4 ans post greffe.

Secondaires : Taux des MVs totales dans le sang à 1 mois, 1, 2 et 3 ans post greffe. Taux des MVs endothéliales, leucocytaires, plaquettaires et épithéliales dans le sang à J0, 1 mois, 1, 2 et 3 ans post greffe

Effet des microvésicules totales isolées du sang de patients avec CLAD/sans CLAD sur des cultures cellulaires de cellules épithéliales bronchiques BEAS-2B et recherche d'un effet de transition épithélio-mésenchymateuse, en présence ou non d'immunosuppresseurs (tacrolimus, mycophénolate mofétil)

Analyse statistique :

L'analyse de ces données longitudinales sera faite en utilisant des méthodes de type modèle mixtes (fréquentistes et /ou bayésiens), linéaires ou non-linéaires. Des méthodes descriptives uni- et multivariées seront utilisées pour caractériser le type de MVs.

[Retour tableau](#)

**Année: 2020**

## Stabilisation de l'équilibre hydroélectrolytique par dialyse continu pendant une perfusion pulmonaire ex-vivo longue durée dans un modèle porcin.

**SAGE Edouard** - Hôpital Foch,

40 rue worth

92150 Suresnes

[Retour tableau](#)

### Résumé

Objectifs :

La perfusion pulmonaire ex vivo (PPEV) est un procédé qui est limitée à quelques heures, compromettant systématiquement l'intégrité des greffons pulmonaires après quelques heures de procédure. L'une des explications de cette dégradation est la survenue d'un déséquilibre hydro-électrolytique et acido-basique. Pour tester cette hypothèse, nous allons brancher une dialyse continue sur le circuit de PPEV pour une durée de 12 heures.

Résultats attendus :

La faisabilité de la technique a été validé par une étude pilote afin de s'affranchir des problèmes technique. L'apport d'une dialyse continue durant la PPEV devrait permettre d'obtenir une stabilité du liquide de perfusion tout au long des 12 heures de procédure. Cette dernière sera mise en évidence par une stabilisation des éléments ioniques (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup>...) et du profil métabolique (glucose, lactate, LDH...). L'analyse du profil cytokinique et transcriptomique devrait mettre en évidence une diminution des voies de signalisation de l'inflammation.

Méthodologie :

Sur un modèle porcin (Large White +/- 50 kg) de donneur à cœur arrêté, après une heure d'ischémie chaude, une procédure de PPEV de 12 heures selon le protocole de Toronto sera effectuée. Une canule sera positionnée sur l'oreillette gauche, une autre canule sur l'artère pulmonaire et une sonde d'intubation sera mise en place en endotrachéale. Le circuit de PPEV sera rempli avec 1,5 litre d'une solution acellulaire et hyperoncotique (liquide de Steen()). Un débit de perfusion à 40% du débit cardiaque théorique du cochon sera appliqué à une température cible de 34°C. Les poumons seront ventilés avec un volume courant de 7 ml/kg, une pression expiratoire finale positive à 5cm H<sub>2</sub>O, et une FIO<sub>2</sub> à 21%.

Deux groupes de 6 bi-poumons seront comparés.

Groupe PPEV STANDARD : 500 ml de solution de Steen sera remplacés toutes les 2 heures.

Groupe DIALYSE: Une dialyse continue (Fresenius(), EMIC-2()) sera branchée en parallèle du circuit de PPEV durant toute la durée de la procédure.

Les paramètres physiologiques (Pression dans l'AP et VP, Résistances vasculaires pulmonaire, débit de perfusât, température, poids du greffon...) et ventilatoires (Volume, pression, compliance pulmonaire, Fe-Co<sub>2</sub>...) ainsi que la biochimie du perfusât (PO<sub>2</sub>, PCO<sub>2</sub>, Ph, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup>, glucose, lactate, LDH...) et les biomarqueurs pro-inflammatoires (TNF(), IL-6, IL-8, IL-12...) seront évalués toutes les heures pendant 12 heures. Les échantillons de perfusât seront prélevés toutes les heures. Des prélèvements de parenchyme pulmonaire seront prélevés à la fin du prélèvement du bloc bi-poumon et à la fin de la PPEV. Tous les échantillons de perfusât et de parenchyme pulmonaire seront immédiatement congelés dans de l'azote liquide et conservés à -80°C jusqu'à la mesure.

## Résultats

De Wolf, Julien, Matthieu Glorion, Luc Jouneau, Jérôme Estephan, Jean-Jacques Leplat, Fany Blanc, Christophe Richard, et al. 2022. « Challenging the Ex Vivo Lung Perfusion Procedure With Continuous Dialysis in a Pig Model ». *Transplantation* 106 (5): 979-87.

[Retour tableau](#)



**Année: 2021**

Antigènes de l'épithélium bronchique : polymorphismes et immunisation des patients transplantés pulmonaires

**DI CRISTOFARO Julie** - EFS- Provence-Alpes-Côte d'Azur-Corse -

Biologie des Groupes Sanguins -

Faculté de Médecine – TIMONE- Marseille

[Retour tableau](#)

## Résumé

Les cellules épithéliales bronchiques (HBEC) fournissent une protection contre les agents environnementaux en coopération avec le système immunitaire. En parallèle de leur rôle dans la promotion de l'inflammation, les cellules de l'épithélium bronchique expriment des molécules immunotolérantes.

Les HBEC sont la principale cible de l'inflammation et de l'allo-immunisation après transplantation pulmonaire (LTx). La survie à 5 ans du greffon et du patient est particulièrement limitée. Les anticorps anti HLA spécifique du donneur (HLA DSA) après LTx sont associés à une faible survie.

D'autres molécules exprimées par l'organe transplanté et présentant une incompatibilité entre le donneur et le receveur peuvent déclencher des mécanismes d'allo-immunisation.

Notre hypothèse est que l'épithélium bronchique pulmonaire exprime des molécules avec des polymorphismes interindividuels, associés au devenir de la transplantation pulmonaire en cas d'incompatibilité donneur-receveur.

Nos objectifs sont de:

- décrire les molécules à la membrane des cellules épithéliales bronchiques
- décrire les polymorphismes génétiques conduisant à des modifications extracellulaires de ces molécules
- associer leur incompatibilité entre donneur et receveur à un rejet pulmonaire aigu
- développer un protocole de détection des anticorps dirigés contre ces molécules exprimées par l'épithélium bronchique.

Ce projet est mené par 4 partenaires:

- partenaire 1 (EFS PACA Corse) spécialisé dans l'étude des gènes HLA, le suivi des patients greffés et transplantés
- partenaire 2 (APHM) effectue et suit les transplantations pulmonaire
- partenaire 3 (INSERM) étudie l'épithélium bronchique dans les maladies respiratoires chroniques
- partenaire 4 (IHU) étudie l'évolution du système immunitaire au regard de son interaction avec l'environnement.

Les étapes prévues du projet sont les suivantes:

- Identification des molécules exprimées au niveau de la membrane des cellules épithéliales bronchiques  
Des HBEC de donneurs sont cultivées dans des conditions d'interface air-liquide. Les HBEC physiologiques et activés sont analysés par RNAseq et par cytométrie en flux

- Description des polymorphismes conduisant à des modifications extracellulaires

Les gènes sont analysés pour leurs polymorphismes codants sur les données du projet 1,000 Genomes in silico. Les polymorphismes sont confirmés expérimentalement sur des ADN de la même cohorte.

- Association de l'incompatibilité donneur-receveur avec le rejet pulmonaire aigu.

L'ADN du receveur et du donneur de la cohorte de transplantation pulmonaire LARA est analysé pour les polymorphismes des molécules de l'épithélium bronchique. Tous les sujets sont analysés pour HLA-Ib. Les sérums des receveurs pré-LTx et post-LTx sont analysés pour les DSA anti-HLA.

- Détection d'anticorps dirigés contre ces molécules.

La détection des anticorps dirigés contre les molécules de l'épithélium bronchique est effectuée dans le sérum du patient pour lesquels une incompatibilité entre le donneur et le receveur est observée.

L'analyse statistique sur la cohorte de transplantation pulmonaire est réalisée en fonction des incompatibilités de molécules de l'épithélium bronchique et des anticorps dirigés contre ces molécules.

[Retour tableau](#)

**Année: 2021**

## Ventilation du greffon pulmonaire en pression négative dynamique lors des procédures de perfusion ex-vivo avant transplantation.

**SAGE Edouard** - Hôpital FOCH

Service de Chirurgie Thoracique

- Suresnes

[Retour tableau](#)

### Résumé

Objectif :

L'objectif principal de la recherche est de démontrer la faisabilité, la sécurité et l'intérêt de l'utilisation d'une enceinte associant une ventilation en pression négative (VPN) et une mobilisation du greffon lors d'une perfusion pulmonaire ex-vivo (PPEV) prolongée.

Méthodologie :

Trois groupes de 8 poumons de porcs seront comparés en fonction du type de ventilation utilisé lors des PPEV standardisée de 12 heures.

Groupe Ventilation en pression positive (VPP)

Groupe Ventilation en pression négative (VPN)

Groupe Ventilation en pression négative avec maintien d'une PEEP (VPN-PEEP)

L'aspect dynamique de la procédure reposera sur un dispositif oscillant pour lutter contre l'œdème déclive de la stagnation.

Les paramètres physiologiques (ventilatoire et hémodynamique) seront monitorés toutes les heures. Des prélèvements du perfusé seront réalisés toutes les heures afin de contrôler la cinétique des cytokines,

des lactates et du LDH. Des biopsies pulmonaires seront réalisées en début et fin de procédure afin de comparer les modifications transcriptomiques et métabolomiques globales (RNA-seq).

Résultats attendus :

Nous espérons de meilleurs paramètres physiologiques et une moindre génération de cytokines pro-inflammatoires (TNF $\alpha$ , IL-6 et IL-8) dans les groupes VPN. Nous espérons aussi que les voies d'activation de l'inflammation soient moins prononcées dans les groupes VPN.

Perspectives :

L'utilisation d'un modèle préclinique de PPEV de poumon porcin, permettra, si les résultats sont satisfaisants, la réalisation rapide d'une étude clinique sur greffon humain. En effet, il est probable que les paramètres physiologiques d'une VPN soit l'avenir de la ventilation en PPEV.

Conclusion :

Les bons résultats d'un modèle préclinique de PPEV pulmonaire porcin ventilé via une enceinte permettant une VPN dynamique, permettront la réalisation rapide d'une étude clinique sur greffe humaine. En effet, il est probable que les paramètres physiologiques d'une VPN dynamique soient l'avenir de la ventilation en PPEV.

[Retour tableau](#)

Année: 2022

## Identification de nouveaux marqueurs épigénétiques de dépistage de rejet aigu en transplantation pulmonaire

**PICARD Christophe** - Laboratoire d'immunogénétique et d'Histocompatibilité

EFS PACA Corse

[Retour tableau](#)

### Résumé

La transplantation pulmonaire (TxP) constitue désormais une option thérapeutique reconnue de l'insuffisance respiratoire chronique irréversible parvenue au stade terminal chez des patients sélectionnés. Si la survie après TxP a augmenté régulièrement au cours du temps, la morbidité et le pronostic fonctionnel du greffon à moyen et long terme restent liés à des complications, telles que le rejet aigu cellulaire/humoral (RA) dont l'incidence est encore très élevée. Les RA passent parfois inaperçus, car peu parlants cliniquement ou trop intriqués avec d'autres événements (infectieux, mécaniques, métaboliques...) liés à la greffe. Le gold standard du diagnostic de RA repose sur des critères histopathologiques à partir de prélèvements pulmonaires qui constituent un acte invasif et à risque. Des outils novateurs, non invasifs, moins coûteux et reproductibles, de dépistage et/ou de diagnostic de RA seraient hautement souhaitables. Récemment, plusieurs auteurs ont suggéré que la quantification de l'ADN circulant (ADNcf) du donneur pouvait être corrélée à la survenue de RA chez des patients transplantés par différents organes solides. L'ADNcf est un ADN double-brin d'une taille moyenne de 150 pb qui peut varier en fonction de son origine (apoptotique, nécrotique ou sécrétoire). Récemment, différents auteurs ont démontré que des modifications épigénétiques étaient variables en fonction du type et du mécanisme d'agression du tissu étudié et que l'ADNcf pouvait en être le support. Aussi, l'objectif du projet est de déterminer des cibles épigénétiques pouvant être des marqueurs de RA chez les transplantés pulmonaires. Dans une première étape, une collaboration avec l'équipe « épigénétique, Chromatine et Modélisation des pathologies » dirigée par le Dr F. Magdinier permettra de déterminer les cibles épigénétiques d'intérêt en réalisant une étude de méthylation et de couverture de fragments en chromatine enrichie en nucléosome portant la marque activatrice H3K4me3 chez des sujets sains (prélèvement PLER, EFS PACA Corse) et chez des transplantés pulmonaires de la cohorte LARA (2018-A00201-54), coordonnée par le service de transplantation pulmonaire de l'hôpital Nord de l'AP-HM dirigé par le Pr M. Reynaud-Gaubert. Dans une seconde étape, l'intérêt lors de rejets aigus des cibles identifiées, sera confronté aux données clinico-biologiques de la cohorte LARA, aux variations de la quantification et de la taille d'ADNcf ainsi qu'au chimérisme donneur. Les résultats attendus sont l'identification de marqueurs portés par l'ADNcf et les marques chromatiniennes, ayant une grande spécificité dans la détection de RA chez les TxP. Elle sera à confirmer par des études prospectives multicentriques. Finalement, cette étude participera à une meilleure connaissance de l'origine quantitative et qualitative de l'ADNcf et à l'identification de nouveaux marqueurs.

[Retour tableau](#)

**Année: 2022**

## COLT –LS : Etude des patients transplantés pulmonaires ayant atteint les 10 ans de suivi post-greffe de la cohorte COLT

**ROUX Antoine** - Hôpital Foch

40 rue Worth

92150 Suresnes France

[Retour tableau](#)

### Résumé

La transplantation pulmonaire (TP) est le seul traitement pour des patients présentant une insuffisance respiratoire chronique terminale. Son efficacité est démontrée pour des patients sélectionnés en termes d'espérance de vie et de qualité de vie post-transplantation. Malheureusement, la survie à long terme reste décevante avec une survie globale à 5 ans de 53% et la principale cause de mortalité tardive est la dysfonction chronique du greffon pulmonaire (DCGP) – la DCGP étant observée chez presque 50% des patients à 5 ans post-TP.

Les études portant sur les longs survivants (LS), plus de 10 ans post-transplantation proviennent principalement du registre United Network for Organ Sharing (UNOS) nord-américain. Ces travaux retrouvent entre 16 et 26% de patients LS. La survenue de la DCGP semble affecter la survie à long terme mais cet événement complexe est difficile à analyser à partir de données de registres.

La cohorte COLT est née de la volonté des centres de transplantations français de mettre leurs forces en commun afin de lutter contre la DCGP. L'étude « COhort in Lung Transplantation » (COLT) a été mise en place en 2009 avec comme objectif principal le suivi de patients transplantés pulmonaires afin d'identifier des biomarqueurs de DCGP. COLT est la plus large étude Européenne en TP et représente une opportunité unique en transplantation pulmonaire avec le suivi longitudinal de plus de 1600 patients greffés entre 2009 et 2018. Les premiers patients ont été inclus dans COLT en septembre 2009, 545 patients ont été transplantés entre septembre 2009 et mars 2012, sur ces 545 patients, 219 sont en vie au 01/12/2021. Ces patients ont atteint 10 ans de suivi post transplantation.

Cette sous population est une opportunité unique de pouvoir comprendre les déterminants de la survie prolongée des patients transplantés pulmonaires.

Nos objectifs sont :

- Décrire les caractéristiques cliniques des patients « long survivants » (LS) défini par une survie  $\geq 10$ ans,
- Comparer les patients LS et patients non LS (survie  $< 10$ ans) transplantés pendant la même période (septembre 2009- Mars 2012) afin d'identifier les facteurs cliniques associés à la survie prolongée,
- Identifier et évaluer des biomarqueurs précoces (dans la première année post TP) associés à la survie prolongée en tirant partie de la biocollection existante.

Un premier travail consistera à collecter les données de suivi des patients long survivants qui n'ont pas été collectés dans le cadre de COLT. Puis nous procéderons à la récupération des données brutes des anticorps anti HLA, la récupération et le traitement des résultats histologiques des biopsies transbronchiques. Nous centraliserons les résultats des biomarqueurs obtenus dans les précédents projets découlant de COLT et nous en identifierons de nouveaux. Enfin, nous procéderons au chaînage de l'ensemble de ces variables pour en permettre l'analyse.

Notre but étant d'identifier des déterminants cliniques et/ou biologiques expliquant la survie prolongée de ces patients transplantés pulmonaires ayant atteint les 10 ans de suivi.





**Année: 2023**

## Thérapie métabolique cardioprotectrice par le nicotinamide riboside en transplantation

**GUIHAIRE Julien** - Département de Recherche Préclinique, Hôpital Marie Lannelongue

[Retour tableau](#)

### Résumé

#### Objectifs

Le cœur est un organe très sensible aux lésions d'ischémie-reperfusion. Celles-ci peuvent se compliquer d'une défaillance primaire du greffon dans plus de 20% des cas lors de la transplantation. La reperfusion du myocarde entraîne un redémarrage brutal du métabolisme oxydatif avec une carence en substrats énergétiques. Les stocks cellulaires de nicotinamide adénine dinucléotide (NAD), coenzyme majeur pour la synthèse de l'ATP, diminuent ainsi de 30 à 50% après ischémie-reperfusion du cœur. Notre étude a pour objectif de développer une nouvelle approche pharmacologique métabolique de cardioprotection en transplantation en restaurant les réserves cellulaires de NAD après exposition à un stress ischémique.

#### Résultats attendus

La restauration des taux de NAD a récemment émergé comme une cible thérapeutique dans différentes pathologies cardiovasculaires chroniques. Nos résultats préliminaires sur modèle murin d'infarctus du myocarde montrent que l'administration de nicotinamide riboside (NR), précurseur du NAD, maintient le niveau de NAD et préserve la fonction mitochondriale des cardiomyocytes. Nous pensons que le NR permettrait de limiter les conséquences de l'ischémie-reperfusion en transplantation cardiaque en optimisant la fonction myocardique.

#### Méthodes

Nous testerons les bénéfices de l'administration du NR dans deux modèles expérimentaux :

- 1) In vivo sur un modèle d'infarctus du myocarde chez la souris avec évaluation de la fonction mitochondriale (respirométrie), de la taille de l'infarctus (morphométrie) et de la mortalité cellulaire
- 2) Ex vivo sur un modèle de cœur porcin exposé à une ischémie prolongée puis reperfusé sur machine avec évaluation de la viabilité myocardique (extraction du lactate circulant), du métabolisme mitochondrial (respirométrie, ouverture du mPTP) et de la performance cardiaque (échocardiographie, boucles pression-volume).

[Retour tableau](#)

Année: 2023

## MANDRAGORE : Modèle d'évaluation multimodal (IRM et métabolique) des Greffons cardiaque En transplantation.

**LEBRETON Guillaume** - UMR-S 1166 - Unité de recherche sur les maladies cardiovasculaires et métaboliques - Pitié Salpêtrière

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'acceptation des greffons cardiaques porte principalement sur les évaluations réalisées avant le prélèvement (dossier du donneur, évaluation par le chirurgien au cours du prélèvement). Nous ne disposons pas, aujourd'hui, d'évaluation fiable des conséquences de l'ischémie, de la préservation, ni de la perfusion en cas de perfusion ex vivo. Certains dispositifs de perfusion ex-vivo ambitionnent d'évaluer les greffons sur la base du métabolisme du lactate, qui reste une approche très limitée et indirecte.

Il existe actuellement différents modes de préservation des greffons cardiaques: conservation hypothermique statique non contrôlée (glacière), contrôlée (Paragonix), perfusion ex vivo normothermique (OCS) et hypothermique (XVIVO). Les performances exactes en termes de qualité de préservation de ces dispositifs ne sont pas clairement objectivées, et ne permettent pas d'en rationaliser l'utilisation.

Les objectifs principaux de cette étude sont de développer, grâce à l'IRM cardiaque, une évaluation objective et reproductible des greffons cardiaques avant transplantation. Outre la mise en évidence de lésions ischémiques, l'IRM permet une évaluation métabolique et qualitative des greffons. L'autre objectif principal est l'évaluation des différents modes de préservations sur la survenue des lésions ischémiques pendant la phase de transport du greffon.

Le modèle d'évaluation de l'ischémie sera réalisé sur des porcs femelles de 20 à 40 semaines. Nous aurons un bras « prélèvement multi-organe » PMO et un bras Maastricht 3 M3.

Dans le bras M3, nous réaliserons un bras prélèvement standard et un bras souffrance myocardique afin d'obtenir une corrélation en IRM. Nous obtiendrons ainsi une concordance entre les lésions ischémiques provoquées, les séquences IRM. Ces séquences d'environ 30 minutes seront réalisées toutes les heures jusqu'à 6h après le clamping. Ces données seront confirmées en métabolomique et lipidomique.

Dans le bras PMO, nous évaluerons la survenue de l'ischémie dans les 4 modes de préservation d'organes. L'ischémie sera évaluée en IRM, en métabolomique et lipidomique.

Si cette évaluation se révèle pertinente, elle pourrait s'incorporer en routine clinique comme un moyen d'évaluation fiable des greffons avant transplantation.

Enfin, dans son application clinique, ce modèle d'évaluation permettra d'optimiser les coûts du transport du greffon, en choisissant le moyen de préservation le plus adapté au temps de transport pour limiter l'apparition de lésion d'ischémie.

[Retour tableau](#)

