



HAL
open science

Reconditionnement des greffons rénaux issus des donneurs décédés par arrêt cardiaque : comparaison des techniques de refroidissement in situ et de circulation régionale normothermique sur un modèle porcin d'allogreffe

Geraldine Allain, Sebastien Giraud, Rodolphe Thuret, Thierry Hauet, Pierre Corbi, Christophe Jayle

► **To cite this version:**

Geraldine Allain, Sebastien Giraud, Rodolphe Thuret, Thierry Hauet, Pierre Corbi, et al.. Reconditionnement des greffons rénaux issus des donneurs décédés par arrêt cardiaque : comparaison des techniques de refroidissement in situ et de circulation régionale normothermique sur un modèle porcin d'allogreffe. *Journal de Chirurgie Thoracique et Cardio-vasculaire*, 2015, 19 (4), pp.213-218. hal-01953302

HAL Id: hal-01953302

<https://hal.science/hal-01953302v1>

Submitted on 12 Dec 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Reconditionnement des greffons rénaux issus des donneurs décédés par arrêt cardiaque : comparaison des techniques de refroidissement in situ et de circulation régionale normothermique sur un modèle porcin d'allogreffe

Géraldine Allain^{1,2*}, Sébastien Giraud², Rodolphe Thuret³, Thierry Hauet², Pierre Corbi¹, Christophe Jayle^{1,2}

RÉSUMÉ

Objectif : devant la pénurie de greffons rénaux, le prélèvement s'est étendu aux donneurs décédés par arrêt cardiaque (DDAC). Ces greffons sont particulièrement soumis aux lésions d'ischémie-reperfusion et l'Agence de la biomédecine laisse libre choix quant à leur reconditionnement : circulation régionale normothermique (CRN) ou refroidissement in situ (RIS). À ce jour, aucune étude n'a mis en évidence la supériorité d'une technique par rapport à l'autre. L'objectif de ce travail est de comparer ces deux techniques sur un modèle porcin d'allogreffe.

Méthodes : après 30 minutes d'ischémie chaude, les reins sont reconditionnés par CRN ou par RIS. Ils sont ensuite prélevés et conservés en machine de perfusion. Chacun des reins est alors transplanté chez un animal allocompatible ayant subi une néphrectomie bilatérale. Le receveur est ensuite suivi pendant 3 mois.

Résultats : nous avons réalisé 6 greffes dans chaque groupe. La reprise de diurèse est significativement plus précoce pour le groupe CRN. Les données sur la créatininémie pendant les 3 mois postgreffe montrent également que le reconditionnement par CRN est meilleur.

Conclusion : dans nos conditions expérimentales, la CRN permet un meilleur reconditionnement des greffons rénaux issus des DDAC.

Mots clés : *transplantation, ischémie/reperfusion, préconditionnement, prise en charge organe donneur, modèle animal.*

ABSTRACT

Reconditioning of kidney transplants from donors deceased from cardiac arrest: comparison of in situ cooling and regional normothermic circulation in a porcine model of allotransplantation

Aim: To increase the pool of renal grafts, removal was expanded to deceased of cardiac death donors (DCDD). These grafts are particularly subject to ischemia-reperfusion injuries and the French Biomedicine Agency gives free choice about their reconditioning: regional normothermic circulation (RNC) or in situ cooling (ISC). To date, no study has demonstrated the superiority of one technique over another. The objective of this study is to compare the two techniques in a porcine model of allotransplantation.

Methods: The kidneys of animals DCDD suffer a period of 30 min of warm ischemia and then are reconditioned by RNC or ISC. They are then removed and stored in a perfusion machine. Each kidney is therefore transplanted into an allocompatible animal that has undergone bilateral nephrectomy. The recipient is then followed for three months.

Results: We performed six transplantations in each group. The recovery of urine output was significantly earlier for the RNC group. Data on creatinine during the three months post-transplantation also shows that reconditioning by RNC is better.

Conclusion: Under our experimental conditions, RNC provides better reconditioning of kidney transplants from the DCDD.

Keywords: *transplantation, ischemia / reperfusion, preconditioning, management donor organ, animal model.*

1. INTRODUCTION

L'insuffisance rénale chronique est une pathologie dont l'incidence est en accroissement régulier dans notre société. Le meilleur traitement actuellement disponible à sa phase terminale est la transplantation rénale, aussi bien en termes de survie et de qualité de vie pour le patient, qu'en termes de coût pour la société [1]. Les progrès de la chirurgie, de la néphrologie et des thérapeutiques immunosuppressives ont permis de reculer les limites d'âge pour proposer aux patients une greffe rénale. On

se retrouve ainsi face à un accroissement important de patients candidats à une transplantation. Mais le nombre de greffon disponible n'a malheureusement pas suivi cette augmentation. Face à cette pénurie de greffons, les équipes de transplantation ont dû élargir les critères de sélection des donneurs, notamment aux donneurs décédés par arrêt cardiaque (DDAC) [2,3], qui seraient susceptibles d'augmenter le pool de donneurs de 20 à 40 % [4,5]. Les greffons issus de cette catégorie sont soumis à une durée d'ischémie chaude non négligeable suite à l'arrêt circulatoire et à la période de réanimation. Ils sont donc plus sensibles aux lésions d'ischémie-reperfusion, se traduisant par un risque accru de reprise retardée de fonction et de non-fonction primaire [6-9]. Il a donc fallu améliorer le conditionnement de ces transplants venant des DDAC pour tenter de limiter les conséquences cliniques de ces lésions. L'Agence de la biomédecine (ABM) propose deux modes de reconditionnement : le refroidissement in situ (RIS) par sonde de Gillot et la circulation régionale normo-

1. Chirurgie cardiaque et thoracique, CHU Poitiers, France.

2. Inserm U1082, CHU Poitiers, France.

3. Urologie et transplantation rénale, CHU Montpellier, France.

* Auteur correspondant : Geraldine.ALLAIN@chu-poitiers.fr

Conflit d'intérêt : aucun. / Conflict of interest statement: none declared.

Cet article est issu d'un mémoire de DESC.

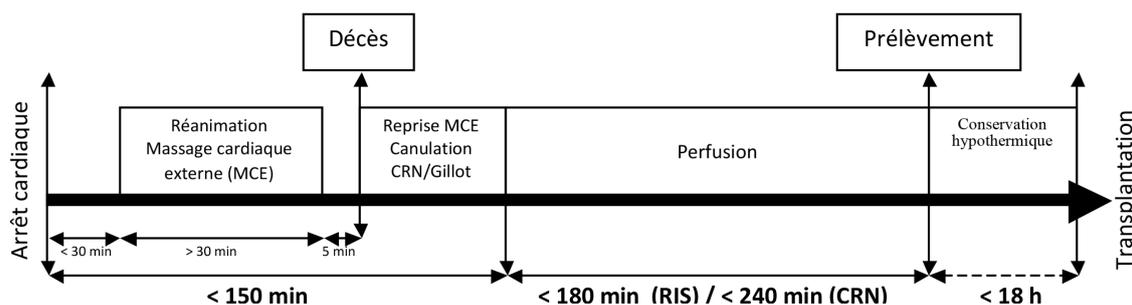


Figure 1. Durées d'ischémie chaude et froide tolérées par l'Agence de biomédecine.

RIS : refroidissement in situ ; CRN : circulation régionale normothermique.

thermique (CRN). Le protocole national encadrant cette prise en charge est résumé en figure 1 [10]. Celui-ci est entouré de nombreuses inconnues. Si l'utilisation de machines de perfusion pour ces greffons considérés comme limites est rendue obligatoire par l'ABM, le type de reconditionnement est laissé à l'appréciation de chacun des centres réalisant ces procédures.

En 2000, une équipe barcelonaise a comparé en clinique sur de petits échantillons le RIS des organes ($n = 44$) et la CRN ($n = 8$). Une diminution significative des non-fonctions primaires et des reprises retardées de fonction avec des survies de greffons satisfaisantes à long terme ont été mises en évidence pour le groupe CRN [11]. Depuis, aucune étude clinique ni expérimentale n'a permis de conforter ou d'expliquer ces résultats.

Devant l'absence d'arguments forts en faveur de l'une ou l'autre technique et compte tenu des enjeux importants en termes de santé publique, il apparaît aujourd'hui fondamental de revenir vers des bases expérimentales pour étudier ces modes de reconditionnement et pour tenter de dégager de grandes lignes de prise en charge scientifiquement prouvées. Nous avons donc développé des modèles expérimentaux porcins de DDAC, étudiant ces deux modes de reconditionnement, afin de tenter de répondre à cette problématique.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Protocole chirurgical

Le protocole a été réalisé en accord avec la réglementation en vigueur du ministère de l'Agriculture et le comité local d'éthique sur l'expérimentation animale (Institut national pour la recherche agronomique).

2.1.1. Anesthésie

L'induction de porcs Large White de 35 à 45 kg est réalisée au masque de Hunter par un mélange de protoxyde d'azote et d'oxygène 50/50 associé à du sévoflurane 8 % et relayé par de l'isoflurane 2,5 %. L'animal est intubé et perfusé au niveau d'une veine marginale de l'oreille. La curarisation est obtenue par l'administration de bromure de pancuronium et l'analgésie péropéatoire par l'injection de nalbuphine et de néfopam.

2.1.2. Circulation régionale normothermique

Dans un premier temps, une voie veineuse centrale jugulaire interne droite est mise en place par cervicotomie. L'aorte abdominale et la veine cave inférieure sous-rénales sont ensuite abordées par laparotomie médiane et voie extrapéritonéale gauche. Après injection d'un bolus d'héparine non fractionnée (300UI/kg), l'animal est canulé : une canule veineuse de 21Fr (Medtronic Inc.,

Minneapolis, MN, États-Unis) est positionnée à la jonction veine cave inférieure-oreillette droite et une canule artérielle de diamètre 14Fr (Medtronic Inc.) est mise en place juste au-dessus de la bifurcation iliaque. Les canules sont raccordées au circuit de CRN (Softline Coating Maquet – Jostra, Maquet Cardiopulmonary AG, Hirrlingen, Allemagne), débullé à l'hydroxyéthylamidon et relié à un groupe thermique (Maquet Cardiopulmonary). La console utilisée est un modèle Rotaflow Maquet (Maquet Cardiopulmonary).

L'arrêt cardiaque est obtenu par l'injection intraveineuse de 2 g de chlorure de potassium. Un cathéter de pression artérielle est également mis en place dans l'aorte descendante par un abord intrathoracique. Après 30 minutes d'ischémie chaude, l'aorte est clampée en amont du cathéter et la CRN est amorcée progressivement pour atteindre un débit compris entre 2,5 et 3 L/min [12]. Après 4 ou 6 heures de CRN, les reins sont prélevés et positionnés sur machine de perfusion en utilisant la solution KPS-1, solution recommandée par le fabricant pour la machine LifePort™ Kidney Transporter (Organ Recovery Systems, Des Plaines, IL, États-Unis), pour 18 heures de conservation.

Le modèle préclinique de CRN est schématisé en figure 2.

2.1.3. Refroidissement in situ par sonde de Gillot

Après réalisation d'une laparotomie xiphopubienne, le rein gauche, l'aorte abdominale et la veine cave inférieure sous-rénales sont abordés par voie extrapéritonéale gauche. La dissec-

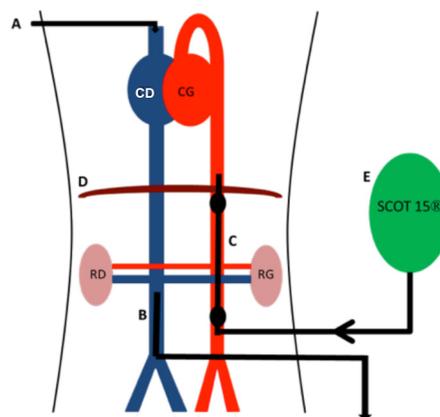


Figure 2. Modèle préclinique de refroidissement in situ.

A : cathéter veineux central ; B : canule de décharge dans la veine cave inférieure ; C : sonde de Gillot dans l'aorte ; D : diaphragme ; E : liquide de perfusion de quatrième génération ; CD : cœur droit ; CG : cœur gauche ; RD : rein droit ; RG : rein gauche.

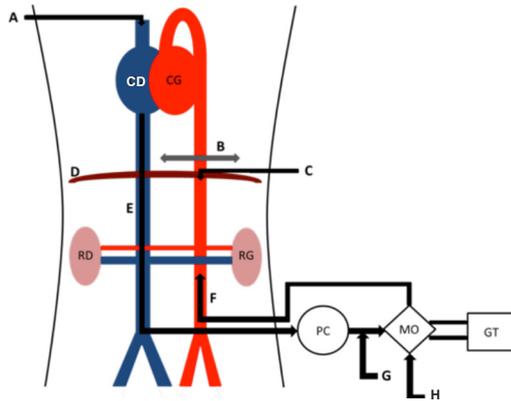


Figure 3. Modèle préclinique de circulation régionale normothermique.

A : cathéter veineux central ; B : clamp aortique ; C : cathéter artériel ; D : diaphragme ; E : canule veineuse dans la veine cave inférieure ; F : canule artérielle dans l'aorte ; G : entrée des perfusions ; H : entrée des gaz ; CD : cœur droit ; CG : cœur gauche ; RD : rein droit ; RG : rein gauche ; PC : pompe centrifuge ; MO : membrane d'oxygénation ; GT : groupe thermique.

tion des gros vaisseaux sur quelques centimètres permet de préparer la canulation. L'animal est alors refermé.

L'injection de 2 g de chlorure de potassium par le cathéter veineux central entraîne l'arrêt cardiaque chez l'animal. Une durée de 30 minutes d'ischémie chaude est alors respectée.

L'animal est ensuite à nouveau ouvert et les vaisseaux sous-rénaux sont réexposés. L'aorte est canulée par une sonde de Gillot (Coloplast, Freudenberg, Danemark). Les 2 ballonnets de la sonde sont gonflés sous contrôle manuel. Le système est purgé avec du SCOT15[®] (Macopharma, Tourcoing, France), liquide de conservation de quatrième génération. La veine cave inférieure est canulée avec une sonde Rüscher (Teleflex Médical, Kernen, Allemagne) charnière 22 et reliée à une poche de décharge (Macopharma, MacoBiotech Transplant, Mouvaux, France). Le lavage des deux reins avec le liquide de perfusion SCOT 15[®] est mis en route. Le débit initial est élevé (150 mL/min) de manière à obtenir rapidement une bonne décoloration dans la décharge cave (objectif < 30 min). Il est ensuite ralenti. L'animal est refermé autour des canules. Environ 15 litres de liquide de perfusion sont nécessaires pour chaque animal pour l'ensemble de la procédure. Un bolus d'héparine non fractionnée est injecté dans la première poche de SCOT 15[®] (300 UI/kg) puis, et conformément au protocole national, 5 000 UI/L sont injectés avec les 5 premiers litres de SCOT 15[®].

Le modèle préclinique de RIS est schématisé en figure 3.

Après 180 minutes de perfusion, les reins sont prélevés et positionnés sur machine de perfusion pour 15 heures de conservation.

2.1.4. Allogreffes

Les animaux receveurs sont allocompatibles permettant la réalisation de greffes rénales sans adjonction de traitement immunosuppresseur [13]. Chaque animal donneur va fournir deux reins. Il y a donc deux receveurs pour chaque animal prélevé.

Les deux greffes sont faites en parallèle par deux équipes chirurgicales.

Dans un premier temps, une cervicotomie gauche est réalisée, permettant la mise en place d'une voie veineuse centrale dans la veine jugulaire interne gauche. Le cathéter est externalisé derrière l'oreille gauche et fixé à la peau. Ce cathéter est laissé

en place pendant les 15 jours post-transplantation pour assurer l'administration des solutés de réanimation et la réalisation des prélèvements sanguins. Un cathéter artériel est mis en place par la même cervicotomie dans l'artère carotide interne gauche. Il permet une surveillance continue de la pression artérielle pendant la greffe et est retiré en fin d'intervention. Les pertes hydrosodées sont compensées par 10 mL/kg/h de gélofusine.

Dans un deuxième temps, on réalise une laparotomie xiphopubienne. Les reins sont abordés par voie transpéritonéale et une néphrectomie bilatérale est réalisée. L'aorte abdominale et la veine cave inférieure sous-rénales sont disséquées pour préparer le site de greffe. Un bolus de 5 000 UI d'héparine est injecté en intraveineux 10 minutes avant le clampage.

On pratique une anastomose terminolatérale artérielle et veineuse au polypropylène 5/0, sur l'aorte et la veine cave inférieure, juste au-dessus de la bifurcation iliaque. Pour le rein gauche, l'anastomose artérielle est réalisée avant l'anastomose veineuse. L'ordre est inversé pour le rein droit pour des raisons anatomiques.

Le déclampage est effectué 30 minutes après le début des anastomoses pour homogénéiser le protocole et une anastomose urétérovésicale est effectuée sur une sonde double J.

Le greffon est positionné en rétropéritonéal. Le péritoine pariétal postérieur et l'abdomen sont alors refermés.

2.1.5. Suivi des animaux

Après transplantation, les porcs sont étroitement surveillés pendant 7 jours dans une cage métabolique. Un protocole strict entoure cette surveillance et comprend une analgésie, une antibioprophyxie, une prévention de l'ulcère de stress, un contrôle des apports hydro-électrolytiques en intraveineux et une supplémentation diurétique par furosémide adaptée à la diurèse. Les animaux peuvent boire dès J2 et manger à J3.

Au terme de ces 7 jours, le porc quitte sa cage métabolique et rejoint son box individuel où il a un accès libre à l'eau et à la nourriture. Le suivi des animaux est de 3 mois.

2.2. Collecte et analyse des échantillons

Des prélèvements sanguins sont effectués pour évaluer la fonction rénale (créatininémie) à J-1, 60 minutes après reperfusion du rein greffé (R60) puis à J1, J3, J5, J7, J11, J14, J30 et J90.

La diurèse est quantifiée quotidiennement la première semaine. D'autres échantillons tissulaires et sanguins sont également prélevés au cours des 3 mois de suivi et conservés pour des analyses ultérieures.

Le dosage de la créatinine sanguine est réalisé sur un automate (Modular, Roche Diagnostics, Meylan, France) au sein du service de biochimie du centre hospitalier universitaire de Poitiers.

Les normes de référence sont des valeurs connues du laboratoire, déterminées à partir de travaux expérimentaux préalables réalisés sur l'élevage de porcs Large White et non publiés.

2.3. Analyses statistiques

Pour comparer les différents échantillons, le test non paramétrique de Kruskal-Wallis et le test de comparaison multiple de Dunn ont été utilisés.

La significativité est retenue pour une valeur de $p < 0,05$.

3. RÉSULTATS

En plus des groupes greffés selon le protocole précédemment décrit intitulés allo CRN4h, allo CRN6h et allo Gillot, nous avons constitué deux autres groupes :

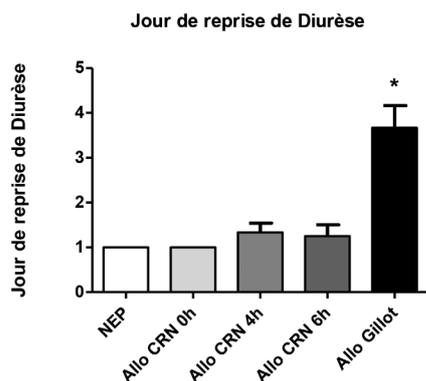


Figure 4. Comparaison de la moyenne du jour de reprise de diurèse après transplantation selon le type de reconditionnement.

NEP : contrôle masse néphronique ; * $p < 0,05$.

- un groupe allo CRN0h, où le rein greffé a subi 30 minutes d'ischémie chaude avant d'être conservé en machine de perfusion hypothermique sans phase de reconditionnement ;
- un groupe contrôle masse néphronique (NEP), où les animaux subissent une néphrectomie et vivent donc sur un seul rein natif.

Chaque groupe est composé de 6 animaux.

3.1. Reprise de diurèse

La reprise de diurèse est statistiquement plus tardive dans le groupe allo Gillot ($p < 0,05$), entre les 3^e et 4^e jours post-greffe alors qu'elle se situe autour du 1^{er} jour post-greffe pour les autres groupes [figure 4].

3.2. Suivi de la fonction rénale jusqu'à 3 mois

Les taux de créatininémie pour les groupes allo CRN rejoignent dès la fin de la première semaine ceux du groupe contrôle masse néphronique et restent superposables jusqu'à 3 mois.

Dans le groupe allo Gillot, le taux de créatininémie n'atteint son niveau le plus bas qu'à la fin de la deuxième semaine. Il reste ensuite stable mais supérieur aux autres groupes pendant les 3 mois de suivi [figure 5].

Ces résultats sont confortés par la comparaison des aires sous la courbe des cinétiques d'évolution de la créatininémie de J0 à J90 [figure 6]. En effet, il existe une différence très significative entre les groupes allo CRN4h et allo Gillot en faveur du groupe allo CRN4h ($p < 0,001$). On retrouve également une différence significative entre les groupes allo CRN0h et allo CRN4h en faveur du groupe allo CRN4h ($p < 0,05$). Il existe par ailleurs une différence très significative entre les groupes contrôle masse néphronique et allo Gillot ($p < 0,001$), ce qui n'est pas constaté avec les groupes allo CRN4h et allo CRN6h.

Ces résultats se traduisent à 3 mois par un taux de créatininémie statistiquement plus faible pour les groupes allo CRN4h ($p < 0,001$) et allo CRN6h ($p < 0,05$) que pour le groupe allo Gillot. Il existe également une différence significative entre les groupes allo CRN4h et contrôle masse néphronique en faveur du groupe allo CRN4h ($p < 0,05$). Les autres résultats ne ressortent pas significatifs [figure 7].

4. DISCUSSION

Pour répondre à la pénurie d'organes, les équipes de transplantation ont élargi leurs critères de sélection des donneurs. De

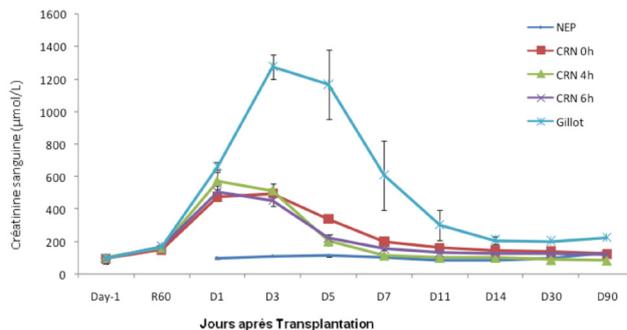


Figure 5. Comparaison des créatinines plasmatiques durant les 3 mois après transplantation.

NEP : contrôle masse néphronique.

nombreuses publications concernant les greffons rénaux issus des DDAC ont montré qu'ils semblent être, malgré la durée d'ischémie chaude à laquelle ils sont soumis, une source valable de greffons. Si la préservation en machine de perfusion semble faire l'unanimité [14-17], l'ABM laisse libre choix aux équipes de greffe quant au mode de reconditionnement des organes avant prélèvement : RIS ou CRN.

Les prélèvements de reins sur DDAC sont pratiqués en France depuis 2008, hors aucune étude clinique n'a, à ce jour, comparé ces deux modes de reconditionnement. Par ailleurs, l'ABM précise les durées maximum admises d'ischémies chaude et froide ainsi que les durées maximum de reconditionnement par RIS ou CRN, avant préservation en machine de perfusion [10]. Or, là non plus, aucune étude clinique ou préclinique n'a, à notre connaissance, étudié les conséquences de ces durées sur le greffon rénal.

Devant les enjeux actuels importants en termes de santé publique, il apparaît nécessaire de prouver le bénéfice de l'une ou l'autre technique. D'autant plus qu'il s'agit de techniques coûteuses tant sur le plan financier (coût du circuit de CRN et des litres de solution de conservation de quatrième génération pour le RIS), que sur le plan humain (grande disponibilité des équipes de prélèvement qui doivent initier le reconditionnement des organes dans des délais très brefs).

Le choix du gros mammifère permet des procédures expérimentales très proches des conditions cliniques. Parmi les gros mammifères, le porc est très accessible et reconnu comme modèle préclinique du fait d'une physiologie très proche de l'homme [18, 19]. Son faible coût d'entretien parmi les gros mammifères autorise un suivi jusqu'à 3 mois après la greffe dans l'animalerie. Ce délai est précieux pour suivre et évaluer le développement des lésions rénales après transplantation.

Ces modèles animaux ont également l'avantage d'être reproductibles, ce qui s'observe par les faibles écarts types retrouvés dans nos résultats [figures 4, 6, 7]. Ils permettent une comparaison des techniques de reconditionnement et offrent également la possibilité de l'étude d'autres durées, non réalisées en clinique, pour analyse mécanistique.

Dans ce travail, nous avons en effet, en plus des groupes allo CRN4h, allo Gillot et du groupe contrôle masse néphronique, équivalent d'un groupe témoin, constitué deux autres groupes : allo CRN0h et allo CRN6h. Lors de travaux précédents étudiant l'impact du reconditionnement par CRN sur le greffon rénal, nous avons montré que la durée de la CRN jusqu'à 4 heures ne

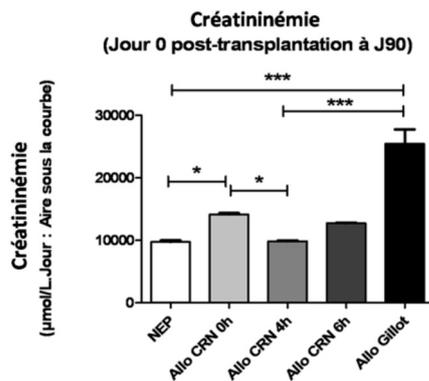


Figure 6. Comparaison des aires sous la courbe des cinétiques d'évolution de la créatinine plasmatique de J0 à J90 après transplantation.

NEP : contrôle masse néphronique ; * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$.

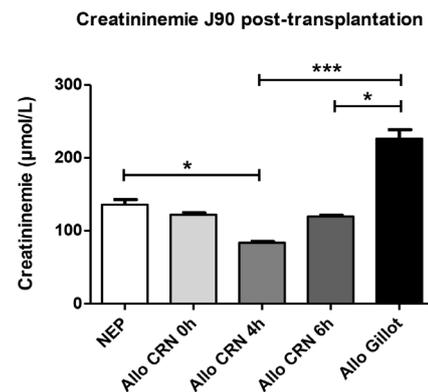


Figure 7. Comparaison des taux de créatinine plasmatique 3 mois après transplantation, entre les groupes.

NEP : contrôle masse néphronique ; * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$.

semblait pas influencer sur l'état d'inflammation et la réponse immunitaire, mais qu'en revanche, les reins soumis à 4 heures de CRN semblaient mieux répondre à l'hypoxie et au stress oxydant que ceux subissant 2 heures de CRN [20].

Au vu de ces résultats, nous avons souhaité étudier des durées de CRN prolongée, allant pourquoi pas jusqu'à maintenir le reconditionnement par CRN jusqu'à la greffe, en s'affranchissant de la conservation en machine de perfusion et en partant du principe que les meilleures conditions de préservation étaient le sang oxygéné du donneur en normothermie. Ces conditions se rapprochaient finalement de celles rencontrées chez les donneurs vivants, qui donnent les meilleurs résultats en termes de survie du greffon (77,8 % à 10 ans versus 61,9 % selon le dernier rapport de l'ABM). Malheureusement, nous n'avons pas pu dépasser 6 heures de CRN, car au-delà l'animal devenait sévèrement anémique (< 5 g/dL). En l'absence de concentrés globulaires disponibles permettant une transfusion, nous avons estimé qu'au-delà de 6 heures de CRN, nous n'étions plus dans des conditions physiologiques. Il nous a cependant paru intéressant d'étudier cette durée de 6 heures.

D'autre part, la constitution du groupe allo CRN0h, bien que ne reflétant aucune condition applicable en clinique, présente un intérêt indispensable pour étudier l'impact de l'absence de reconditionnement avant mise en machine de perfusion. Ce groupe présente surtout un intérêt dans l'analyse mécanistique et la compréhension des résultats.

Ces premiers résultats montrent que la reprise de fonction rénale est meilleure avec un reconditionnement par CRN. En effet, la reprise de diurèse est quasiment immédiate pour les reins du groupe CRN alors que les reins du groupe Gillot ne reprennent leur diurèse au plus tôt qu'à partir du troisième jour après la greffe. La cinétique de reprise de fonction des greffons est un enjeu important en transplantation. Une meilleure rapidité de reprise de fonction des greffons est effectivement corrélée à une meilleure durée de survie des greffons. De plus, un retour rapide à la diurèse réduit en clinique le nombre de séances de dialyse post-greffe nécessaires en cas de retard de reprise de fonction. Ces séances de dialyse représentent un coût financier important et un fort désagrément dans la qualité de vie du patient.

Concernant le retour à une fonctionnalité d'ordre physiologique, les données sur la créatinine sanguine montrent également que le reconditionnement par CRN est de meilleur pronostic. Le pic de créatinine sanguine est plus élevé après reconditionnement par RIS et le retour à des valeurs physiologiques est également

plus tardif. Les non-reprises ou retard de fonction des greffons sont la manifestation des principales lésions d'ischémie-reperfusion dont les conséquences sont néfastes pour le devenir des greffons.

Concernant les lésions tardives du greffon, aboutissant à la perte du greffon à moyen ou long terme, le taux de créatinine plasmatique est également le reflet des lésions histologiques du greffon. Nous avons établi au sein du laboratoire qu'un taux de créatinine > 110 $\mu\text{mol/L}$ chez ces animaux n'est plus physiologique et est corrélé à une perte de fonction rénale souvent associée à une atrophie tubulaire et à un développement de fibrose interstitielle. Dans nos conditions expérimentales, l'aire sous la courbe des cinétiques d'évolution de la créatininémie pendant les 3 premiers mois post-greffe montre des résultats significativement moins bons pour le groupe allo Gillot par rapport au groupe contrôle masse néphronique. Il n'y a par contre pas de différence significative entre les groupes allo CRN4h, allo CRN6h et le groupe contrôle masse néphronique. Les résultats sont significativement meilleurs pour le groupe allo CRN4h que pour les groupes allo Gillot et allo CRN0h. On peut ainsi supposer que l'hypothermie, qui entraîne une mise au repos du métabolisme cellulaire, « fige » en quelque sorte les lésions induites par l'ischémie chaude, alors que la CRN permet d'initier une réparation précoce de ces lésions.

En effet, au cours de travaux précédents étudiant l'impact de la durée du reconditionnement par CRN, nous avons montré que des mécanismes de réponse à l'hypoxie induits par « hypoxia inducible factor » $1-\alpha$ étaient mis en route à partir de 4 heures de CRN, entraînant la synthèse de gènes cibles comme érythropoïétine, « vascular endothelial growth factor » et « heme oxygenase-1 » [20].

Les bénéfices de la CRN sur la reprise de fonction peuvent donc être expliqués par le fait que la synthèse de ces gènes durant la CRN joue un rôle de reconditionnement et de préconditionnement ischémique limitant ainsi les lésions précoces du greffon. Ces résultats doivent être confortés par l'étude des voies de l'hypoxie, de l'inflammation et de la fibrose sur les différents échantillons sanguins et tissulaires que nous avons collectés au cours de ces travaux et qui sont actuellement en cours d'exploitation.

5. CONCLUSION

Dans nos conditions expérimentales, nous avons constaté une supériorité de la CRN par rapport au RIS dans le reconditionne-

ment des greffons rénaux issus des DDAC, avec une reprise plus précoce de la diurèse et un retour plus rapide à des taux plus physiologiques de la créatininémie dans les groupes allo CRN4h et allo CRN6h.

La CRN avec une durée, non pas maximale mais minimale de 4 heures, semblerait être la technique de reconditionnement de référence pour les greffons rénaux issus des DDAC.

Ces travaux réalisés chez le gros mammifère et dans des conditions expérimentales reproduisant au plus proches les conditions rencontrées en pratique clinique pourraient donc très rapidement être transposés à l'homme.

Si le nombre de transplantations réalisées dans ces conditions restent encore confidentiel, l'extension récente des donneurs à la catégorie III de la classification de Maastricht, c'est-à-dire aux personnes pour lesquelles une décision d'un arrêt de soins en réanimation est prise en raison de leur pronostic, fait qu'encore plus de greffons devraient être concernés par cette problématique.

RÉFÉRENCES

1. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med* 1999;341:1725-30.
2. Gagandeep S, Matsuoka L, Mateo R et al. Expanding the donor kidney pool: utility of renal allografts procured in a setting of uncontrolled cardiac death. *Am J Transplant* 2006;6:1682-8.
3. Nuñez JR, Del Rio F, Lopez E, Moreno MA, Soria A, Parra D. Non-heart-beating donors: an excellent choice to increase the donor pool. *Transplant Proc* 2005;37:3651-4.
4. Daemen JH, de Wit RJ, Bronkhorst MW, Yin M, Heineman E, Kootstra G. Non-heart-beating donor program contributes 40% of kidneys for transplantation. *Transplant Proc* 1996;28:105-6.
5. Kootstra G, Wijnen R, van Hooff JP, van der Linden CJ. Twenty percent more kidneys through a non-heart beating program. *Transplant Proc* 1991;23:910-1.
6. Barlow AD, Metcalfe MS, Johari Y, Elwell R, Veitch PS, Nicholson ML. Case-matched comparison of long-term results of non-heart beating and heart-beating donor renal transplants. *Br J Surg* 2009;96:685-91.
7. Farney AC, Singh RP, Hines MH et al. Experience in renal and extrarenal transplantation with donation after cardiac death donors with selective use of extracorporeal support. *J Am Coll Surg* 2008;206:1028-37.
8. Kokkinos C, Antcliffe D, Nanidis T, Darzi AW, Tekkis P, Papalois V. Outcome of kidney transplantation from non heart-beating versus heart-beating cadaveric donors. *Transplantation* 2007;83:1193-9.
9. Tojimbara T, Fuchinoue S, Iwadoh K et al. Improved outcomes of renal transplantation from cardiac death donors: a 30-year single center experience. *Am J Transplant* 2007;7:609-17.
10. Antoine C, Brun F, Tenaillon A, Loty B. Organ procurement and transplantation from non-heart-beating donors. *Nephrol Ther* 2008;4:5-14.
11. Valero R, Cabrer C, Oppenheimer F et al. Normothermic recirculation reduces primary graft dysfunction of kidneys obtained from non-heart-beating donors. *Transpl Int* 2000;13:303-10.
12. Allain G, Kerforne T, Thuret R et al. Development of a preclinical model of donation after circulatory determination of death for translational application. *Transplant Res* 2014;14:3:13.
13. Chardon P, Renard C, Gaillard CR, Vaiman M. The porcine major histocompatibility complex and related paralogous regions: a review. *Genet Sel Evol* 2000;32:109-28.
14. Moers C, Smits JM, Maathuis MH et al. Machine perfusion or cold storage in deceased-donor kidney transplantation. *N Engl J Med* 2009;360:7-19.
15. Schreinemachers MC, Doorschodt BM, Florquin S et al. Pulsatile perfusion preservation of warm ischaemia-damaged experimental kidney grafts. *Br J Surg* 2010;97:349-58.
16. Kwiatkowski A, Wszola M, Kosieradzki M et al. The early and long term function and survival of kidney allografts stored before transplantation by hypothermic pulsatile perfusion. A prospective randomized study. *Ann Transplant* 2009;14:14-7.
17. Kwiatkowski A, Wszola M, Kosieradzki M et al. Machine perfusion preservation improves renal allograft survival. *Am J Transplant* 2007;7(8):1942-7.
18. Dehoux JP, Gianello P. The importance of large animal models in transplantation. *Front Biosci* 2007;12:4864-80.
19. Swindle MM, Smith AC, Hepburn BJ. Swine as models in experimental surgery. *J Invest Surg* 1988;1:65-79.
20. Allain G, Giraud S, Hébrard W et al. Évaluation préclinique de la transplantation rénale issue de donneurs décédés par arrêt cardiaque. *Journal Chir Thor Cardio-Vasc* 2012;16:219-24.