Version of Record: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001407920305598
Manuscript_a814ee0f08cbc4ba5b4cc3fa17f068f1

Avancées de la conservation des greffons destinés à la transplantation*

Progress in organ preservation for transplantation

Karim Boudjema[1, 2], Fabien Robin[1, 3], Heithem Jeddou[1], Laurent Sulpice[1, 3], Erwan Flecher[3, 4].

1- Service de chirurgie hépatobiliaire et digestive, Hôpital Pontchaillou, Université de Rennes1, France
2- Inserm UMR_S 1085 – Institut de Recherche en Santé et Environnement
Université de Rennes 1, France
3- INRAE, INSERM, Univ Rennes, Institut Nutrition Metabolisme et Cancer, Rennes, St Gilles, France
4- Service de chirurgie thoracique, cardiaque et vasculaire, Hôpital Pontchaillou, Université de Rennes1, France

Correspondance :

Pr Karim Boudjema. Service de chirurgie hépatobiliaire et digestive, Hôpital Pontchaillou, Université de Rennes1, France

Karim.boudjema@chu-rennes.fr

*Séance du 13 octobre 2020

© 2020 published by Elsevier. This manuscript is made available under the CC BY NC user license
https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/

Résumé

La conservation d'organes peut être définie comme l'ensemble des procédés qui s'attachent à protéger le greffon des méfaits de l'anoxie entre le moment de sa déafférentation vasculaire chez le donneur et celui de sa revascularisation chez le receveur. Elle s'est appuyée longtemps sur le principe selon lequel l'hypothermie, distribuée par la perfusion initiale de solutions de conservations dans les vaisseaux du greffon atténuait les méfaits de l'ischémie.

Le manque de greffons a poussé à élargir les critères de sélection des greffons. Ces greffons, plus sensibles à l'ischémie, ont incité à rechercher de nouveaux modes de conservations basés sur le maintien du métabolisme cellulaire. Ainsi ont été développées des conservations oxygénées, utilisant des machines dites de perfusion. D'abord en hypothermie à l'aide de solutions spécifiques, la conservation par perfusion oxygénée se fait maintenant au sang et en normothermie. Plus qu'améliorer et allonger la conservation, ces machines permettent de tester et sélectionner les greffons avant l'implantation. Elles permettront dans un avenir proche de réparer ou même transformer le greffon pour améliorer sa fonction initiale et sa survie au long cours.

Abstract

Organ preservation can be defined as the set of procedures that seek to protect the graft from ischemic lesions between the time of vascular disconnection from the donor and the instant of revascularization in the recipient. It has long been based on the principle that core cooling of the graft using a preservation solutions, reduces ischemia-reperfusion injury.

The shortage of grafts and the subsequent need to be less restrictive in graft selection criteria led to the development of a dynamic, oxygenated preservation using continuous infusion machines. Initially bloodless, oxygenated perfusion is now performed using the donor blood and is normothermic. More than extending the preservation time, oxygenated normothermic perfusion allows testing and selecting the grafts before implantation. No doubt that in the near future, it will be possible to repair or even transform the grafts in order to improve its initial function and eventually its long-term survival.

1. Introduction

La transplantation d'organes est une pratique courante. Près de 6000 greffes ont été réalisées en France en 2019 [1]. Qu'il s'agisse de greffe de cœur, de poumon, de foie, de rein, de pancréas ou d'intestin, les résultats sont bons au point qu'ils imposent désormais ce traitement comme le plus performant des défaillances d'organes parvenues à un stade terminal.

Entre l'instant où le greffon est prélevé chez son donneur et celui où il est réimplanté chez le receveur, il s'écoule du temps. Pendant ce laps de temps, le greffon n'est plus vascularisé et les cellules qui le composent souffrent d'anoxie. Ce temps peut être très court, réduit à la durée de quelques anastomoses lorsque donneur et receveur sont opérés simultanément et en un même lieu. Il peut être beaucoup plus long et délétère lorsque donneur et receveur ne sont pas localisés sur le même site, lorsque la chirurgie du receveur s'allonge parce qu'elle est compliquée, ou lorsque le greffon nécessite d'être réparé voire transformé avant d'être implanté.

La conservation d'organes peut être définie comme l'ensemble des procédés qui s'attachent à protéger le greffon des méfaits de l'anoxie entre le moment de sa déafférentation vasculaire chez le donneur et celui de sa revascularisation chez le receveur. Longtemps considérée comme le parent pauvre d'un procédé thérapeutique dominé par la maîtrise du geste chirurgical et le contrôle du rejet, la conservation du greffon s'impose désormais comme le socle sur lequel s'appuie sa qualité et dont dépendent les suites immédiates de la greffe et finalement la survie au long cours du greffé.

Les bons résultats de la transplantation en ont augmenté les indications et ont induit un déséquilibre avec la quantité de greffons disponibles. Il y a en France 2,5 receveurs

potentiels pour un greffon disponible et le risque de ce déséquilibre est le décès en liste d'attente. Pour augmenter le nombre des greffons il n'a pour l'instant été trouvé d'autre solution que celle d'être moins restrictifs dans les critères de sélection des greffons. Ainsi, la proportion de donneurs âgés de plus de 65 ans entre 2000 et 2018 a été multipliée par un facteur 6 et représente désormais 40% des prélèvements. L'âge médian des donneurs est de 60 ans et il a augmenté de 10 ans ces 20 dernières années [1]. Un arrêt cardiaque prolongé, des antécédents de diabète, d'hypertension artérielle, une obésité, ou une dysfonction biologique hépatique ou rénale ne sont plus des contre-indications au prélèvement d'un rein ou d'un foie. Ces greffons dits « marginaux » ou « à critères élargis » (*extended criteria donors*) sont plus sensibles à l'anoxie [2] et il a fallu améliorer encore les conditions de conservation pour ne pas altérer les résultats de la greffe.

Cette revue a pour but de décrire les bases physiopathologiques et l'évolution des méthodes qui sous-tendent les progrès de la conservation d'organes. La figure 1 représente l'évolution du nombre des publications consacrées au sujet. Faible d'abord, son augmentation s'est faite en deux paliers, correspondant à l'arrivée des machines de perfusion oxygénée, hypothermique puis celle des machines de perfusion normothermique. Nous n'aborderons ni la conservation des tissus composites comme le sont les membres, ou le visage, ni celle des cellules.

2. La lutte contre les dommages de l'ischémie a motivé le développement des premières méthodes de conservation.

Pendant des décennies la conservation d'organes s'est appuyée sur une explication physiopathologique simple : nous sommes des organismes aérobies et le substrat énergétique de nos cellules est l'ATP, dont la synthèse, qu'elle se fasse par la voie de la glycolyse ou celle de la béta-oxydation des acides gras, se fait dans les mitochondries en présence d'oxygène. En l'absence d'oxygène, les stocks intracellulaires d'ATP s'effondrent. Une conséquence immédiate de ce défaut d'ATP est l'arrêt du fonctionnement des pompes membranaires ATP dépendantes. Les cellules qui ne peuvent plus extruder le sodium qu'elles contiennent, se gorgent d'eau et finissent par se rompre. Dans les cellules, les membranes mitochondriales (siège de la synthèse d'ATP à travers la chaîne respiratoire) et celles du réticulum endoplasmique se désorganisent. Plus l'ischémie est longue plus les lésions qu'elle induit sont importantes.

Les deux objectifs de la conservation des greffons ont d'abord été i) réduire le métabolisme cellulaire avec une hypothermie pour que l'organe tolère un environnement dépourvu d'oxygène ii) limiter l'œdème cellulaire induit par l'anoxie. Ces deux objectifs ont amené aux concepts de *core cooling* et de *cold storage* qui représentent aujourd'hui encore le mode de conservation la plus utilisé : la solution de conservation, préalablement refroidie à 4 - 8°C est perfusée dans le greffon à travers ses vaisseaux afférents, distribuant l'hypothermie instantanément et de manière homogène. Cette perfusion est réalisée *ex vivo* lorsque le greffon est prélevé sur un donneur vivant ou *in situ* à travers l'aorte lorsque le prélèvement est effectué sur un donneur décédé. Les greffons, une fois réfrigérés, flottant dans leur solution, sont stockés dans un conteneur stérile entourés de glace, au fond d'une glacière et

ainsi transportés en « ischémie froide » (IF) depuis le lieu du prélèvement jusqu'à celui de l'implantation. Leurs performances étaient acceptables pour la conservation du rein mais insuffisantes pour conserver le foie et le cœur. Il fallait dans tous les cas greffer dans l'urgence

3. La prévention des effets délétères de la reperfusion a motivé la mise au point de la solution de l'Université du Wisconsin (*UW solution*).

C'est au milieu des années 1980, à l'Université du Wisconsin, USA, dans le laboratoire de Folkert O. Belzer et James H. Southard que la conservation des greffons fait un pas de géant. Poussés par l'envie d'en finir avec la nécessité de greffer foies et pancréas dans l'urgence et souvent la nuit, les deux hommes, l'un chirurgien, l'autre biochimiste, s'associent pour mettre au point une solution dont l'efficacité tient à ce qu'elle combat de manière très efficace, non seulement les méfaits de l'ischémie froide mais aussi ceux de la reperfusion. En effet, après de longues heures de conservation au froid et privés d'oxygène, les greffons, fragilisés, subissent à l'instant de leur revascularisation le double choc d'un réchauffement et de l'afflux massif d'oxygène. A la revascularisation du greffon, le retour de l'oxygène dans des cellules aux membranes fragilisées par l'IF, en particulier celles des mitochondries, induit la formation de dérivés toxiques de l'oxygène [anion superoxide $O^{\cdot}$, radical hydroxyl $OH^{\cdot}$ et eau oxygénée H2O2]. L'action des dérivés toxiques de l'oxygène achève la déstructuration des membranes cellulaires, active les mécanismes d'apoptose et stimule le largage de cytokines inflammatoires qui se traduit en particulier par l'afflux de polynucléaires dans les capillaires du greffon. L'altération des parois vasculaires favorise leur obstruction. La nécrose ischémique de territoires plus ou moins vastes et plus ou moins nombreux explique l'incidence et l'intensité variables de la dysfonction initiale des greffons.

La composition de la solution UW, est le fruit du pragmatisme chirurgical et de l'expertise du biochimiste Les composants de la solution UW ont été pensés, parfois de manière empirique [3] pour s'opposer aux altérations induites par l'IF et la reperfusion. Comme dans les solutions primitives, la solution UW contient des agents imperméants, capables de réduire le flux d'eau et le gonflement des cellules. Dans les solutions primitives, ces imperméants étaient le glucose, le saccharose, le mannitol, le sulfate ou encore l'histidine qui rapidement finissent par diffuser à travers les membranes cellulaires et perdent leur activité osmotique. Ils ont été remplacés par deux polysaccharides de très haut poids moléculaire, le raffinose et l'acide lactobionique ainsi que par un agent colloïde puissant, (l'hydroxyethyl d'amidon), véritable marque de fabrique de la solution L'originalité de la solution UW par rapport à toutes les solutions qui existaient sur le marché a été d'ajouter aux composés osmotiquement actif, des agents antiradicalaires [4] et des substrats énergétiques rapidement utilisable par les cellules à l'instant du choc de la revascularisation [5].

Sur des modèles de transplantation chez le gros animal et à partir de greffons conservés en IF, l'équipe du Wisconsin a montré la supériorité de l'UW sur toutes les autres solutions alors disponibles, en durée et en qualité de conservation. Les greffons rénaux pouvaient être conservés pendant 72 heures [6], les greffons hépatiques pendant 48 heures [7] et les greffons pancréatiques pendant 24 heures [8]. Ces excellents résultats obtenus au laboratoire ont été confirmés en pratique clinique. En transplantation rénale, un grand essai européen, multicentrique prospectif randomisé a montré la supériorité de l'UW sur la solution contrôle EuroCollins. Pour une durée d'IF d'environ 24h dans chaque groupe, les greffons conservés avec la solution UW nécessitaient significativement moins de recours à la dialyse en postopératoire (23% versus 33%) et la survie à 1 an des greffons préservés avec UW était supérieur de 6% à celle des greffons du groupe contrôle (88,2% vs. 82,5%) [9]. C'est

en transplantation hépatique, que la supériorité de la solution UW sur la solution de Collins est la plus spectaculaire. Elle se traduit par une diminution significative de l'incidence des dysfonctions initiales du greffon et, surtout, la possibilité d'allonger la durée de conservation aux alentours de 12h. Nous avons montré que l'implantation du greffon jusque-là toujours faite dans l'urgence et dans la nuit pouvait désormais être reportée au lendemain pour être réalisée à des heures où les moyens humains et le plateau technique d'un hôpital sont à leur meilleur rendement [10]. Ce travail, retrospectif, ne permettait cependant pas de montrer un avantage en termes de complications postopératoires à la réalisation des greffes le jour plutôt que la nuit.

La solution UW, parce qu'elle est très chère [environ 300 Euros le litre et il en faut 6 à 8 litres par greffe] a incité de nombreuses équipes et derrière elles l'industrie pharmaceutique, à la fabrication de solutions dérivées, reprenant les grands principes de la solution originelle. Dans ces solutions l'hydroxyethyl d'amidon, seul composant breveté de l'UW, était soit retiré, soit remplacé par du polyethylène glycol (PEG). L'analyse rétrospective de plus de 40 000 transplantations hépatiques colligées dans le registre européen des transplantations montrait une efficacité superposable entre ces solutions et la solution UW et leur supériorité, en termes de survie du greffon, face à la solution de Bretschneider encore très largement utilisée pour conserver les foies en Allemagne et dans les pays de l'Est de l'Europe [11]. Les mêmes avantages à la solution UW étaient retrouvés en transplantation pancréatique. Le greffon pancréatique pouvait désormais être conservé plus de 15 heures et permettre la réalisation de doubles greffes rein-pancréas, sans urgence après que le cross-match a pu vérifier l'absence d'anticorps anti HLA du greffon chez le receveur. L'équipe du Wisconsin affichait en 1992 les meilleurs résultats au monde en transplantation rein-

pancréas avec des survies du greffon de 84.6% et 77.4% à respectivement 1 an et 5 ans de la greffe [12].

Même si elle est associée à de très bons résultats [13], la solution UW n'a jamais fait l'unanimité en transplantation cardiaque et pulmonaire par rapport à des solutés plus classiques comme la solution de Bretschneider (solution HTK). La présence d'amidon, les très fortes concentrations en potassium et les concentrations inappropriées en calcium ont été incriminées. Cette singularité tient probablement au fait que les greffons cardiaques ou pulmonaires ne souffrent d'aucun retard à leur reprise de fonction alors qu'une fonction retardée, de quelques heures à quelques jours est parfaitement acceptable lorsqu'il s'agit de foie, de rein ou de pancréas. A ce jour, la conservation en IF des greffons thoraciques n'a pas progressé. Les transplantations cardiaques et pulmonaires continuent de se faire dans l'urgence ce qui contribue à en réduire le nombre. La multiplicité des solutions utilisées contribue d'autre part à ne pas permettre d'envisager le concept d'une solution « universelle » qui réfrigèrerait, d'un coup, à partir de l'aorte, la totalité des organes [ou même des tissus] qui y sont implantés.

Les tentatives de prétraitement des donneurs pour recharger les organes en substrats énergétiques comme le glycogène [14], en composés antiradicalaires comme la N-Acetyl Cystéine [15] ou l'utilisation d'une solution de rinçage du greffon immédiatement avant la revascularisation [16] n'ont jamais convaincu les équipes de transplantation en dépit de résultats expérimentaux et cliniques plutôt encourageants.

4. En hypothermie, l'apport d'oxygène améliore les performances des solutions de conservation.

4.1 Les machines de conservation dynamique par perfusion hypothermique oxygénée (PHO).

Au cours de la conservation en ischémie froide, l'hypothermie ralentit le métabolisme cellulaire et adapte l'activité des tissus à son environnement anoxique. Cependant, même en hypothermie, persiste une faible activité métabolique. Apporter de l'oxygène aux greffons pendant leur conservation a donc été envisagé comme un moyen d'améliorer leur conservation. L'idée n'est pas récente. Elle été exploitée dès le début des années 1970 par FO Belzer pour transplanter les reins prélevés sur des donneurs en état de mort encéphalique. Les greffons étaient perfusés à travers l'artère, en hypothermie, sur une machine munie d'une pompe pulsatile, avec une solution de conservation faîte « maison » (plasma du donneur débarrassé de son cryoprécipité) et oxygénée en surface par un courant d'O2 à faible débit. En dépit des excellents résultats qu'elle donnait (les greffons pouvaient sans risque être conservés pendant plus de 24 heures et reprenaient leur fonction immédiatement) la PHO n'était utilisée que par son concepteur, parce que très coûteuse, utilisant une solution à la composition mal contrôlée et dont la mise en œuvre était beaucoup plus compliquée que la simple conservation en ischémie froide. Qui plus est, les performances de la PHO étaient atténuées par le fait que la majorité des transplantations rénales étaient réalisées en Amérique du Nord à partir de donneurs vivants, avec des durées de conservation très courtes. Dans les années 1990, l'équipe du Wisconsin était la seule à croire en cette modalité de conservation. Elle mettait au point une solution de conservation spécifique à la perfusion (UWMP, UW-machine perfusion). Cette solution, la seule utilisée aujourd'hui en pratique clinique, ne diffère de celle de la solution UWCS que par le remplacement du lactobionate de potassium par du gluconate de sodium et la présence de Na+ comme cation principal. L'HES, colloïde imperméant, y est essentiel pour limiter les

barotraumatismes imprimés par les ondes de perfusion à la paroi des vaisseaux du greffon. Sur des modèles de transplantation chez le gros animal la PHO avec la solution UWMP l'équipe du Wisconsin a montré qu'il était possible de conserver le foie jusque 72 heures, le rein 5 à 7 jours [17, 18] et qu'il était possible de « récupérer » des greffons altérés par de longues périodes d'arrêt cardiaque avant le prélèvement [19]. En dépit de ces performances et face à la simplicité de la conservation en IF, la PHO ne sera pas immédiatement utilisée en pratique clinique.

La nécessité est, dit-on, mère de toutes les inventions. A la fin des années 2000 l'activité de greffe était marquée par l'aggravation de la pénurie en greffons. Elle se traduisait par l'augmentation du nombre des décès en liste d'attente et s'expliquait par la conjonction de 3 facteurs : i) l'efficacité de la greffe et avec elle l'augmentation de la demande, ii) l'efficacité de la prévention routière qui réduisait le nombre des décès par traumatisme crânien et de la prise en charge des accidents vasculaires cérébraux ou cardiaques qui réduisent l'incidence des états de mort encéphalique, iii) enfin un taux de refus au prélèvement par les familles des donneurs en mort encéphalique désespérément accroché aux alentours de 35% [1] . La seule réponse efficace à cette situation était l'élargissement des critères de sélection des donneurs et l'utilisation de greffons dits « marginaux », parce qu'âgés, athéromateux, ayant subi des périodes de collapsus prolongé chez le donneur, l'administration de fortes doses de catécholamines ou prélevés sur des donneurs à cœur arrêtés. Ces greffons, plus fragiles, sont beaucoup plus sensibles à l'ischémie froide-reperfusion [20-21] et c'est dans ce contexte que la PHO s'impose comme un moyen plus efficace de les conserver.

Appliquée à tous les organes, c'est en transplantation rénale et hépatique que la PHO a fait l'objet d'une validation clinique. Un essai multicentrique européen conduit par l'équipe d'Oxford a montré la supériorité de la PHO pour conserver les greffons rénaux à critères

élargis [22]. Dans cette grande étude, à la méthodologie imparfaite,l'incidence des reprises retardées de la fonction des greffons passait de 69,5% dans le groupe IF à 53,7% dans le groupe machine et le temps nécessaire à la récupération d'une fonction rénale normale était 4 jours plus court dans le groupe machine. La réduction importante du nombre des séances d'hémodialyse compensait le surcoût induit par la PHO. En France la PHO est un mode de conservation obligatoire des greffons rénaux marginaux et l'assurance maladie en rembourse l'utilisation. Plusieurs études rétrospectives ont à ce jour montré l'intérêt de la PHO pour conserver les greffons hépatiques (figure 2) prélevés sur des donneurs à cœur arrêté [23, 24]. La perfusion artérielle associée à la perfusion portale serait un moyen d'améliorer la conservation des éléments glissoniens et de réduire le taux de complications biliaires après la greffe [25]. Le rôle de la PHO pour améliorer la conservation les greffons stéatosiques reste à démontrer [26]. Un essai prospectif randomisé français, promu par l'équipe de transplantation hépatique de l'hôpital de la Croix-Rousse dont l'objectif est de montrer la supériorité de laPHO sur la conservation en IF lorsque les greffons sont prélevés sur des donneurs à critères élargis, est en cours (HopExt NCT03929523).

Le bénéfice de la perfusion pulsatile hypothermique est réèl en transplantation cardiaque et pulmonaire [27] mais ce mode de conservation n'est pas encore utilisé de manière courante en pratique clinique.

4.2 Conservation statique oxygénée

Si elle est performante, la PHO est une technique plus onéreuse et plus difficile à mettre en œuvre que la simple IF. Elle impose en particulier la mobilisation d'équipes dédiées et la perfusion d'un liquide de conservation dont les performances rhéologiques sont très éloignées de celles du sang et peuvent altérer la micro-vascularisation des greffons. Pour ces raisons, il a été proposé de revenir à la simplicité de la conservation statique en

ajoutant à la solution de conservation des transporteurs d'oxygènes. Chez la souris, le dépôt d'une couche d'hydrocarbures perfluorés (Perfluorocarbones, PFC) saturée en O_2 au-dessous de la solution UW, a montré sa capacité à maintenir le niveau d'oxygène dissout dans la solution de conservation statique du greffon, à ralentir la chute des taux tissulaires d'ATP et à améliorer la survie de greffons hépatiques, en particulier lorsqu'ils étaient prélevés sur des donneurs qui avaient subi un arrêt cardiaque prolongé [28]. Les PFC n'ont jamais été utilisés en pratique clinique et il leur est reproché de n'avoir aucune action sur la solution de conservation contenue dans l'espace vasculaire des greffons.

M101 (Laboratoire Hémarina SA, Morlaix, France), est une hémoglobine (Hb) extraite du ver marin *Arenicola marina*. Cette Hb a la particularité de fixer d'énormes quantités d'oxygène et permet à l'invertébré de continuer à oxygéner ses tissus alors qu'il est enfoui sous le sable à marée basse. Chaque molécule d'Hb M101 peut en effet fixer 156 molécules d'O2 (contre 4 avec l'Hb humaine) et reste fonctionnelle à 4°C. Elle libère son oxygène de manière physiologique, le long d'un gradient de pression et fournit aux tissus avoisinants l'exacte quantité d'O2 dont ils ont besoin. Mieux encore, M101 contient une superoxyde dismutase capable de piéger les radicaux libres produits au moment de la revascularisation. Sur un modèle de transplantation rénale chez le porc, l'équipe de recherche en transplantation de Poitiers a montré que la conservation statique en hypothermie des greffons avec la solution UW contenant M101 améliorait la qualité de la conservation et réduisait de manière significative le taux de dysfonction initiale du greffon après sa revascularisation [29]. L'intérêt de M101 a aussi été montré dans la conservation statique des greffons pulmonaires [30] et cardiaques [31]. Récemment, à l'aide d'un modèle de transplantation hépatique orthotopique chez le porc, nous avons montré que l'addition de M101 à la solution UW, améliorait les performances de la conservation statique des greffons et surtout, conservait

presque aussi bien que la PHO [32]. Dans une étude ouverte multicentrique française, M101 a été utilisé pour conserver les greffons rénaux prélevés sur des donneurs en mort encéphalique. Le groupe expérimental était comparé au groupe des malades transplantés avec le rein controlatéral, conservé dans l'UW sans M101. Dans cet essai, la tolérance du produit était excellente et l'UW+M101 réduisait significativement le taux de dysfonction initiale des greffons par rapport au groupe contrôle [33]. La validation des résultats de l'essai OxYopà travers un grand essai prospectif randomisé multicentrique est en cours de réalisation (OxYop 2 NCT 04181710).

5. Et si l'hypothermie n'était pas la solution ?

Avec l'utilisation croissante de greffons à critères élargis est née l'idée d'une conservation d'organes capable d'améliorer la qualité du greffon plutôt que de simplement la préserver. Parce que cet objectif semblait impossible à basse température en raison de l'effondrement de l'activité métabolique des cellules, il a naturellement été envisagé de conserver les organes en les perfusant à température à 37°C. Cette modalité de conservation pouvait s'envisager in situ et mieux encore, ex situ, à l'aide de machines de perfusion normothermique oxygénée (PNO).

Une PNO régionale (PNR) est aujourd'hui utilisée en France pour améliorer la qualité des greffons rénaux et hépatiques chez le donneur en arrêt cardiaque. Elle consiste à perfuser les organes abdominaux in situ à l'aide d'un oxygénateur extracorporel par membrane, après avoir exclu de la perfusion l'étage thoracique à l'aide d'un ballonnet gonflé au-dessus du

tronc cœliaque. La PNR a montré son intérêt en transplantation rénale [34] et hépatique [35]. Les organes ainsi « ressuscités » sont ensuite réfrigérés et conservés en IF ou par PHO.

La conservation sur machine de perfusion normothermique oxygénée (PNO) est l'avancée la plus récente et la plus spectaculaire en conservation d'organes. Le greffon, d'abord réfrigéré et conservé en IF, est rapidement placé sur une machine de perfusion, au sang, oxygéné et à 37°C. Véritable banc d'essai des greffons, cette machine permet d'envisager non seulement la prolongation de la durée de conservation, mais également leur évaluation, leur transformation voire leur traitement ex vivo pour éventuellement en modifier l'immunogénicité et en améliorer la tolérance

C'est en transplantation hépatique que la PNO a été le mieux étudiée et l'on doit au groupe de transplantation de l'université d'Oxford d'avoir montré ses performances et d'avoir mis sur le marché la première machine (figure 3). Dans un essai clinique de phase 1, cette équipe montrait d'abord la sécurité et la faisabilité de la PNO. Une série de 20 greffons sans critères de marginalité étaient conservés pendant près de 9 heures sur machine puis transplantés. Leur fonction était comparée à un groupe apparié de greffons conservés en IF à l'aide de la solution UW. Si le taux de complications postopératoires et la survie des greffons et des malades étaient identique, dans les deux groupes, la fonction initiale des greffons perfusés était significativement améliorée [36]. Ce travail amenait naturellement le premier essai clinique prospectif et randomisé montrant la supériorité de la PNO sur la conservation en IF [37]. Dans cette étude, une analyse de sous-groupe faisait la preuve de la supériorité de la PNO sur l'IF lorsque les greffons étaient prélevés sur des donneurs à critères élargis. Très récemment, la même équipe démontrait l'intérêt de la PNO pour tester la qualité de

greffons initialement jugés impropres à la greffe. Seuls les foies capables de métaboliser le lactate dans l'heure suivant la perfusion étaient transplantés et avec succès [38].

Alors que la conservation des greffons thoraciques n'avait pas trouvé d'intérêt à la PHO, elle fait un bond en avant avec la PNO. Le seul dispositif actuellement commercialisé de ce type est l'*Organ Care System*® [39]. L'équipe préleveuse se rend sur place avec sa machine de perfusion, arrête et réfrigère le cœur, l'explante puis le branche immédiatement sur la machine de PNO. Le cœur repart aussitôt, battant, ex situ jusqu'à la réimplantation. Actuellement en France, quelques hôpitaux se sont engagés dans cette voie : Lille, Paris (Marie Lannelongue) et Rennes. Les avantages de cette machine de perfusion seraient principalement d'offrir la possibilité d'améliorer l'évaluation du greffon, de réduire l'ischémie froide et ses conséquences sur la fonction myocardique à quelques minutes, le temps de passer le greffon du donneur à la machine, de réhabiliter un greffon qui autrement aurait été refusé, et finalement d'améliorer les résultats de la greffe. La PNO peut aussi être appliquée au greffon pulmonaire et associe une ventilation [40].

Bien que très séduisante sur le plan intellectuel et physiologique, devant autoriser à terme des durées de conservation plus longues et donner de meilleurs résultats à la transplantation d'organes, la PNO a des inconvénients. La nécessité de partir prélever à plusieurs personnes (2 ou 3 personnes expérimentées et sans doute à l'avenir dédiées pour brancher le greffon, le réanimer, le surveiller et intervenir si besoin dessus), l'encombrement (pour réduire la durée d'IF il faut transporter la machine de perfusion qui reste encombrante), le coût très supérieur à l'IF et à la PHO, sont autant d'écueils à son développement. Il faudra aussi en trouver le positionnement dans la stratégie de transplantation et répondre en particulier à deux questions : faut-il la réserver aux greffes

difficiles et aux greffons marginaux ? Avec la PNO, ce sont peut-être de nouveaux métiers de la santé qui se dessinent.

6. Conclusion

Dans le contexte actuel de pénurie des greffons la conservation des organes est devenue une étape déterminante de la transplantation. Il est vraisemblable que les procédés de perfusion en normothermie vont remplacer la conservation hypothermique, qu'elle soit ou non oxygénée, parce qu'ils donneront du temps pour réaliser greffe et parce qu'ils permettront de tester la qualité du greffon, de transformer ceux dont la qualité ne sera pas jugée optimale et d'envisager des manipulations capables de modifier l'antigénicité des tissus pour en améliorer leur tolérance. En France, l'Agence de la biomédecine et les sociétés savantes ont mis en place une organisation qui permet aux équipes d'une part de mettre en place ces nouvelles modalités de conditionnement et d'autre part de faire prendre en compte leur financement par le ministère de la santé, comme c'est déjà le cas pour les machines à perfusion rénale.

Parions que la maîtrise des techniques de perfusion normothermique des greffons ouvrira le domaine séduisant du traitement ex-vivo par la chirurgie, la chimiothérapie ou la radiothérapie des cancers localisés.

Références

1- Agence de la biomédecine. Rapport Annuel de l'agence de la biomédecine 2019. [En ligne] Disponible sur : https://rams.agence-biomedecine.fr (consulté le 6/11/2020)

2- Pandya K, Sastry V, Panlilio M, Yip TC, Salimi S, West C et al. Differential impact of extended criteria donors after brain death or circulatory death in adult liver transplantation. Liver Transpl 2020 (ahead of print).

3- Southard JH. James Southard, PhD, Professor of Surgery [Emeritus], pioneer in organ preservation, co-inventor, UW organ preservation solution. Transplantation

4- Boudjema K, van Gulik T, Lindell SL , Belzer FO, Southard JH. Effect or oxidized and reduced glutathione in liver preservation. Transplantation 1990;50:948-51.

5- Belzer FO, Solliger HW, Glass NR, Southard JH. Beneficial effects of adenosine and phosphate in kidney preservation. Transplantation 1983;36:633-35.

6- Belzer FO, Southard JH. Organ preservation and transplantation. Prog Clin Biol Res 1986;224:291-303.

7- Jamieson NV, Sundberg R, Lindell S, Claesson K, Moen J, Vreugdenhil PK et al. Preservation of the canine liver for 24-48 hours using simple cold storage with UW solution. Transplantation 1988;46:517-522.

8- Wahlberg JA, Southard JH, Belzer FO. Development of a cold storage solution for pancreas preservation. Cryobiology 1988;23:477-82.

9- Ploeg RJ, von Bockel JH, Langendjik PTH, Groenewegen M, van der Woude FJ, Persijn GG et al. Effect of preservation solution on results of cadaveric kidney transplantation. Lancet 1992;340:129-37.

10- Vix J, Beller JP, Jaeck D, Wolf P, Boudjema K. Liver grafts can be preserved overnight. Liver Transplant 1996:2;105-10.

11- Adam R, Delvart V, Karam V, Ducerf C, Navarro F, Letoublon C et al. Compared efficacy of preservation solutions in liver transplantation: a long-term graft outcome study from the European liver transplant registry. Am J Transplant 2015;10:395-406.

12- Southard JH, Belzer FO. Organ preservation. Annu Rev Med 1995;46:237-47.

13- Li Y, Guo S, Liu G, Yuan Y, Wang W, Zheng Z et al. Three preservation solutions for cold storage of heart allografts: A systematic review and meta-analysis. Artificial Organs 2016;40:489-96.

14- Boudjema K, Lindell SL, Southard JH, Belzer FO. The effect of fasting on the quality of liver preservation. Transplantation 1990;50:943-48.

15- Nakano H, Boudjema K, Alexandre E, Imbs P, Chenard MP, Wolf P et al. Protective effects of N-Acetylcystein on hypothermic ischemia-reperfusion injury of rat liver. Hepatology 1995;22:539-45.

16- Bachmann S, Bechstein WO, Keck H, Lemmens HP, Brandes N, John AK, et al. Pilot study : Carolina Rinse Solution improves graft function after orthotopic liver transplantation in humans. Transplant Proc 1997;29:390-92.

17- Pienaar BH, Lindell SL, van Gulik TM, et al. Seventy-two-hour preservation of the canine liver by machine perfusion. Transplantation 1990;49:258-60.

18- J F McAnulty, P K Vreugdenhil, S Lindell, J H Southard, F O Belzer. Successful 7-day perfusion preservation of the canine kidney. Transplant Proc 1993;25:1642-44.

19- Lindell SL, Compagnon P, Mangino MJ, Southard JH. UW solution for hypothermic machine perfusion of warm ischemic kidneys. Transplantation. 2005;79:1358-61.

20- Shahrestani S, Webster AC, Lam VW, Yuen L, Ryan B, Pleass HC, Hawthorne WJ. Outcomes from pancreatic Transplantation in donation after cardiac death: A systematic review and meta-analysis. Transplantation 2017;101:122-30.

21- O'Neill S, Roebuck A, Khoo E, Wigmore SJ, Harrison EM. A meta-analysis and meta-regression of outcomes including biliary complications in donation after cardiac death liver transplantation. Transpl Int 2014;27:1159-74.

22- Moers C, Smits JM, Maathuis MH, Treckmann J, van Gelder F, Napieralski BP et al. Machine perfusion or cold storage in deceased-donor kidney transplantation. New Engl J Med 2009;360:7-19.

23- Jochmans I, Moers C, Smits JM, Leuvenink HGD, Treckmann J, Paul A et al. Machine perfusion versus cold storage for the preservation of kidneys donated after cardiac death : a multicenter, randomized, controlled trial. Ann Surg 2010;252:756-64.

24- Dutkowski P, Polak WG, Muiesan P, Schlegel A, Verhoeven CJ, Scalera I et al. First comparison of hypothermic oxygenated perfusion versus static cold storage of human donation after cardiac death liver transplants : an international-matched case analysis. Ann Surg 2015;262:764-70.

25- Op den Dries S, Sutton ME, Karimian N, de Boer MT, Wiersema-Buist J, Gouw ASH et al. Hypothermic oxygenated machine perfusion prevents arteriolonecrosis of the peribiliary plexus in pig livers donated after circulatory death. PLoS One 2014;9 (02) e88521.

26- Lai Q, Ruberto F, Pawlik TM, Pugliese F, Rossi M. Use of machine perfusion in livers showing steatosis prior to transplantation: a systematic review. Updates Surg 2020 (ehead of print).

27- Van Caenegem O, Beauloye C, Vercruysse J, Horman S, Bertrand L, Bethuyne N et al. Hypothermic continuous machine perfusion improves metabolic preservation and functional recovery in hearts grafts. Transplant Int 2015;28:224-31

28- Martins PN, Berendsen TA, Yeh H, Bruinsma BG, Izamis ML, Op Den Dries S et al. Oxygenated UW Solution Decreases ATP Decay and Improves Survival After Transplantation of DCD Liver Grafts. Transplantation 2019;103:363-370.

29- Thuillier R, Dutheil D, Trieu MTN, Mallet V, Allain G, Rousselot M. et al. Supplementation with a new therapeutic oxygen carrier reduces chronic fibrosis and organ dysfunction in kidney static preservation. Am J Transplant 2011;11:1845-60.

30- Glorion, M. Polard V, Favereau F, Hauet T, Zal F, Fadel E et al. Prevention of ischemia-reperfusion lung injury during static cold preservation by supplementation of standard preservation solution with HEMO2life® in pig lung transplantation model. Artif Cells Nanomed Biotechnol 2018;46:1773-80.

31- The ES, Zal F, Polard V, Menasché P, Chambers D J. HEMO2life as a protective additive to Celsior solution for static storage of donor hearts prior to transplantation. Artif Cells Nanomed Biotechnol 2017;45:717–22.

32- Alix P, Val-Laillet D, Turlin B, IBen Mosbah I, Burel A, Bobillier E et al. Addition of the oxygen carrier M101 to a cold-storage solution could be an alternative to HOPE to preserve pig liver grafts. J HEP reports 2020;2:100119.

33- Le Meur Y, Badet L, Essig L, Thierry A, Büchler M, Drouin S et al. First-in-human use of a marine oxygen carrier (M101) for organ preservation: a safety and proof-of-principle study. Am J Transplant 2020;20:1729-38.

34- Abboud I, Viglietti D, Antoine C, Gaudet F, Meria P, Tariel E et al. Preliminary results of transplantation with kidneys donated after cardiocirculatory determination of death: a French single-centre experience. Nephrol Dial Transplant 2012;27:2583-7.

35- Savier E, Lim C, Rayar M, Orlando F, Boudjema K, Mohkam K, Lesurtel M, et al. Favorable Outcomes of Liver Transplantation from Controlled Circulatory Death

Donors Using Normothermic Regional Perfusion Compared to Brain Death Donors. Transplantation 2020;104:1943-51.

36- Ravikumar R, Jassem W, Mergental H, Heaton N, Mirza D, Perera MTPR et al. Liver Transplantation After *Ex Vivo* Normothermic Machine Preservation: A Phase 1 (First-in-Man) Clinical Trial. Am J Transplant 2016:16;1779-87.

37- Nasralla D, Coussios C, Mergental H, Akhtar MZ, Butler AJ, Ceresa CDL et al. A randomized trial of normothermic preservation in liver transplantation. Nature 2018;557:50-56.

38- Margental H, Laing RW, Kirkham AJ, Perera TPR, Boteon YL, Attard J et al. Transplantation of discarded livers following viability testing with normothermic machine perfusion. Nat Comm 2020;11:2939.

39- Ex-vivo perfusion of donor hearts for human heart transplantation (PROCEED II): a prospective, open-label, multicentre, randomised non-inferiority trial. Ardehali A, Esmailian F, Deng M, Soltesz E , Hsich E, Naka Y, et al. PROCEED II trial investigators. The Lancet. 2015;385:2577-84.

40- Jawitz OK, Raman V, Becerra D, Doberne J, Choi AY, Halpern SE et al. Lung Transplantation after Ex Vivo Lung Perfusion: Early Outcomes From a US National Registry. Ann Surg. 2020 (ehead of print).

Légende des figures

Figure 1 : Évolution du nombre des publications consacrées à la conservation d'organes. (Source PubMed.gov).

Figure 2 : A- Machine de perfusion hypothermique VitaSmart® de la société Bridge to Life. Le greffon (ici un foie) est perfusé dans un bac dès le début de sa préparation ex vivo. La machine de perfusion est une pompe à galets qui pousse le liquide de perfusion (UWMP) dans la veine porte et le récupère au fond du bac. Le débit, fixé à 3 ml/min, est asservi à la pression mesurée à l'entrée de la canule placée dans la veine porte. La solution de conservation est oxygénée à l'aide d'un oxygénateur à membrane interposé entre la pompe et la veine porte. La réfrigération est assurée par de la glace pilée stérile placée dans la cupule et sa température contrôlée pour se situer entre 4 et 8°C. B- Machine de perfusion LiverAssist® de la société Organ Assist. La pompe est pulsatile et non occlusive, le greffon est placé dans son bac de perfusion après sa préparation ex vivo. La température est maintenue à 8-10°C à l'aide d'un échangeur thermique.

Figure 3. Machines de perfusion normothermiques oxygénées. Le liquide de perfusion est un sang compatible avec celui du donneur, il est oxygéné et pulsé. A-Machine Metra® de la société Organox pour conserver le greffon hépatique. B- Organ Care System® pour conserver le greffon cardiaque de la société Transmedics. C- Perfusion normothermique de greffons rénaux à l'aide d'un système de circulation extracorporelle.

Figure 1

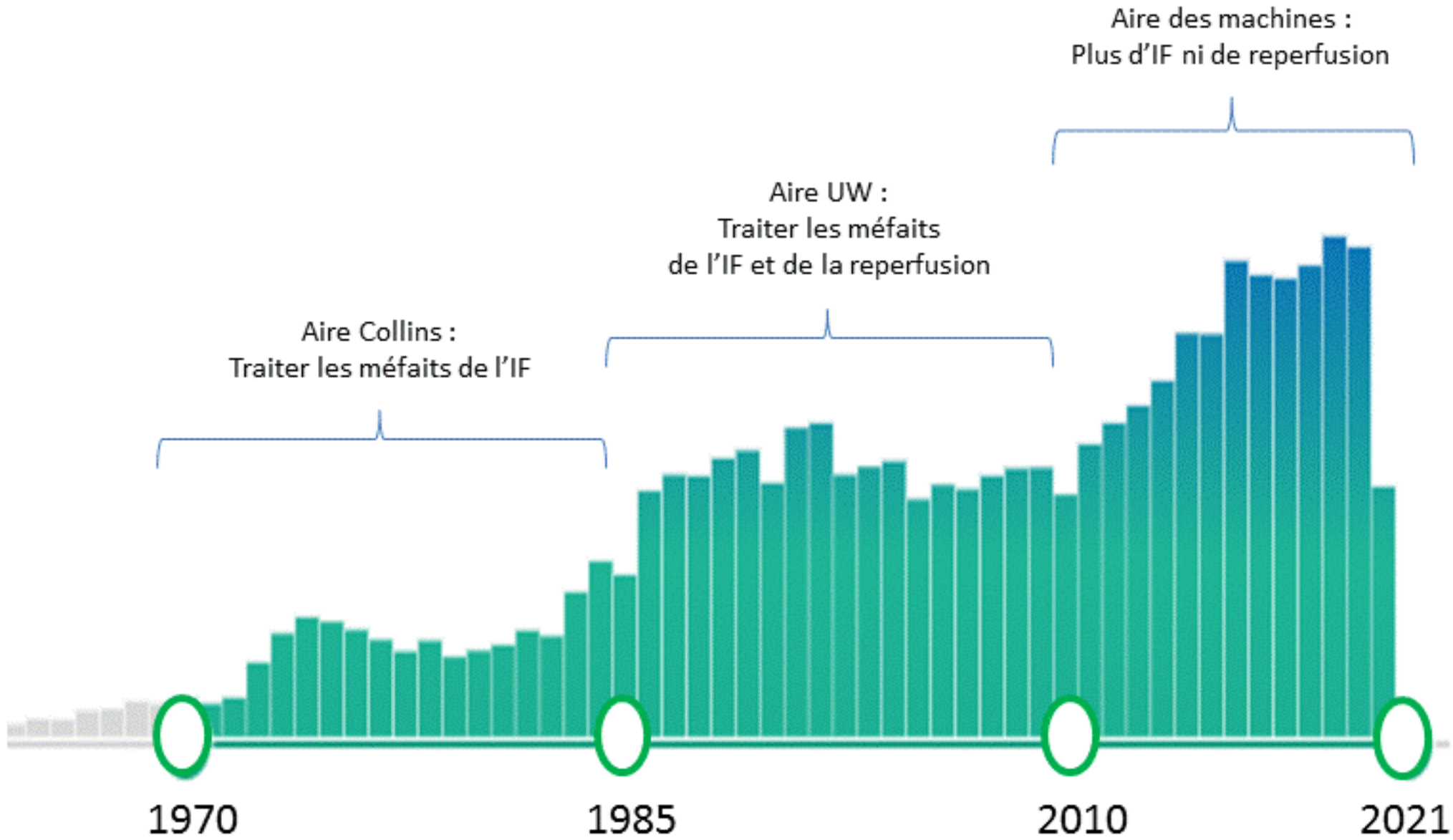

Aire des machines :
Plus d'IF ni de reperfusion
Aire UW :
Traiter les méfaits
de l'IF et de la reperfusion
Aire Collins :
Traiter les méfaits de l'IF
1970
1985
2010
2021

Figure 2

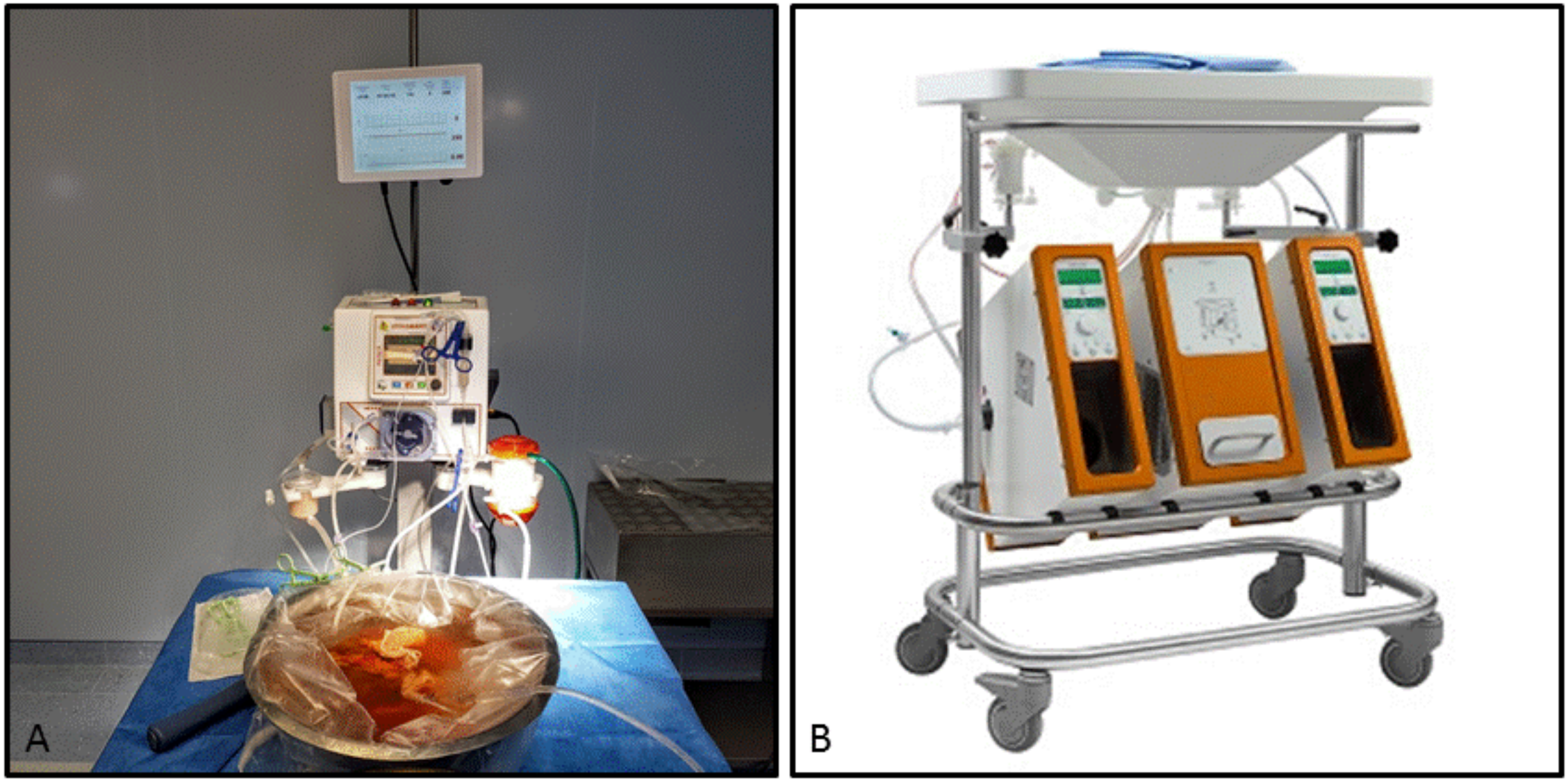


Figure 3 :

