

Table des matières

I. ABREVIATIONS.....	2
II. TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	3
III. TABLE DES TABLEAUX.....	4
IV. INTRODUCTION	5
V. PATIENTS ET METHODES	7
1. POPULATION ETUDIEE.....	7
2. SCHEMA DE L'IMMUNOSUPPRESSION ET GESTION PREVENTIVE DES ANTI-INFECTIEUX ET DU RISQUE DE REJET..	7
3. DONNEES RECUEILLIES	9
4. ANALYSE STATISTIQUE	10
VI. RESULTATS	11
VII. DISCUSSION :	23
VIII. CONCLUSION.....	25
IX. BIBLIOGRAPHIE	25

I. ABREVIATIONS

BCR : récepteur des lymphocytes B

BTB : Biopsies Trans-Bronchiques

CLAD : Chronic Lung Allograft Dysfunction (Dysfonction chronique du greffon)

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CMV : Cytomegalovirus

IL : Interleukine

NFS : Numération Formule Sanguine

RAC : Rejet Aigue Cellulaire

SPLy : Sous-Populations Lymphocytaires

TP : Transplantation Pulmonaire

Rapport-gratuit.com 
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

II. TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1: Diagramme de flux de la population incluse dans l'étude.	12
Figure 2 : Cinétique des sous-populations leucocytaires à la NFS.	16
Figure 3 : Cinétique des sous-populations lymphocytaire.	17
Figure 4 : Cinétique individuelle des éosinophiles dans le temps de chaque patient.	19
Figure 5 : Boîte à moustaches des lymphocytes B à J0 en fonction des groupes. ...	21
Figure 6 : Cinétique des éosinophiles la première année post-greffe.	22

III. TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Caractéristiques cliniques peropératoires donneurs et receveurs.....	13
Tableau 2 : Complications post-greffes (Infections, rejet et anticorps anti-HLA) selon les groupes.	14
Tableau 3 : Analyses uni- et multivariées des cinétiques des comptes cellulaires par modèle linéaire mixte en fonction des groupes RAC et pas RAC à 1 mois.....	18
Tableau 4 : Percentiles des comptes des éosinophiles en fonction des groupes.	20
Tableau 5 : Analyses uni-variées des cinétiques des comptes cellulaires par modèle linéaire mixte en fonction des groupes RAC et pas RAC à 1 an.	22

IV. INTRODUCTION

La transplantation pulmonaire (TP) constitue une option thérapeutique désormais reconnue et bien définie pour certains patients très sélectionnés ayant une insuffisance respiratoire chronique au stade terminal de leur évolution (1). Si l'on assiste à une amélioration régulière des résultats de la greffe pulmonaire au cours des deux dernières décennies, les résultats sont toujours limités notamment par la survenue de phénomènes de rejets (2).

Le contrôle de l'immunité est l'un des éléments clefs dans le devenir des greffons. Les cibles du rejet sont les antigènes des leucocytes humains (qui sont le complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH)), véritable signature génétique de l'individu. Celui-ci est exprimé à la surface de pratiquement toutes les cellules de l'organisme (CMH I présent sur toutes les cellules nucléées, et CMH II présent plus spécifiquement sur les cellules B, sur les cellules présentatrices d'antigènes et sur les cellules récemment activées). De ce fait, chaque greffon pulmonaire est reconnu par le système immunitaire comme étranger, ce qui entraîne la mise en place des défenses immunitaires du receveur (3). Celles-ci ne peuvent être complètement minorées au moment du choix du greffon du fait de l'impossibilité d'obtenir la compatibilité HLA parfaite entre donneur et receveur. Il est maintenant bien connu que l'incidence du rejet aigu cellulaire (RAC) augmente avec le nombre d'antigènes du système HLA non appariés et que ce dernier prédit la mortalité à 1, 3 et 5 ans post-greffe (4).

Malgré les progrès récents, notamment liés à une optimisation du traitement immunosuppresseur d'une part et à une meilleure maîtrise des compatibilités HLA d'autre part, il existe toujours un nombre important de rejets aigus d'allogreffes, avec une incidence décrite autour de 30% des greffés pulmonaires la première année, qui peuvent conditionner la survie des greffons à court et à long termes (3,5).

La survie à long terme après une greffe pulmonaire est limitée par la dysfonction chronique du greffon (CLAD), pour lequel nous avons peu de traitement efficace. Un des facteurs de risque de développer un CLAD est le RAC (6). Même un seul épisode

de RAC de grade non élevé a montré un risque indépendant de développement un CLAD (7).

Le RAC est une attaque du système immunitaire de l'hôte contre le greffon qui le reconnaît comme étranger. Afin d'empêcher ce mécanisme de défense, le traitement immunosuppresseur cible essentiellement les lymphocytes car ce sont les piliers principaux de l'immunité adaptative. Les cellules présentatrices d'antigènes activent les lymphocytes qui à leurs tours stimulent de nombreuses cellules impliquées dans la reconnaissance du greffon, la cytotoxicité et l'apoptose des cellules cibles (du greffon). De nombreuses populations de globules blanc sont ainsi impliquées dans le RAC.

Une association entre les lymphocytes sanguins et le RAC a été mise en évidence en greffe pulmonaire principalement entre le 1er mois et le 6eme mois post-greffe (8,9). En revanche, aucune étude n'a mis en évidence un lien lors du premier mois pour les lymphocytes. De plus des associations ont également été suspectées entre les basophiles et les éosinophiles mais par des études anciennes et de très faibles effectifs (10).

Le RAC est un diagnostic difficile nécessitant une biopsie trans-bronchique (BTB) qui est un examen invasif et non dénué de risque (pneumothorax, hémoptysies) (11,12). Il est caractérisé par un infiltrat en couronne de cellules mononuclées (essentiellement des lymphocytes) péri-vasculaire et interstitielle lors de l'analyse histologique (13). Cependant, malgré le caractère invasif et les complications potentielles, la biopsie reste la méthode de référence pour le diagnostic du RAC car aucun marqueur sérique n'a été prouvé suffisamment spécifique jusqu'à présent. De manière systématique, nous pratiquons dans notre centre une BTB à 1 mois post-greffe pour ne pas méconnaître un rejet aigu silencieux débutant en raison de l'incidence élevée au cours de cette période.

Ainsi, notre hypothèse principale sous-tend que certaines sous-populations leucocytaires sanguines pourraient être quantitativement associées au RAC. Ces dosages facilement réalisables en pratique clinique de routine pourraient être des

biomarqueurs précieux pour apprécier le risque individuel de RAC, bien qu'à ce jour il n'y ait aucune recommandation dans ce sens.

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer la valeur prédictive de la cinétique des sous-populations leucocytaires circulantes sanguines (Numération Formule Sanguine (NFS) et Sous-Populations Lymphocytaires (SPLy)) sur la survenue du RAC à un mois après transplantation pulmonaire diagnostiquée par BTB.

V. PATIENTS ET METHODES

1. POPULATION ETUDIEE

Il s'agit d'une étude rétrospective monocentrique (Équipe de transplantation pulmonaire du CHU de Marseille, APHM, Hôpital Nord, Aix Marseille Université, France) portant sur des patients ayant bénéficié d'une transplantation pulmonaire entre Janvier 2013 et Septembre 2017. Tous les patients étudiés étaient par ailleurs inclus dans la cohorte de suivi nationale multicentrique (COLT) (Cohort On Lung Transplantation) à laquelle participent tous les centres de TP autorisés sur le territoire français (11 centres) et avaient signé avant la greffe un consentement de participation aux travaux de recherche par un comité national de protection de personnes (N° d'enregistrement : 2009 A00036 51). Notre étude a porté seulement sur les patients transplantés et suivis par notre équipe au CHU de Marseille, pour lesquels une BTB à un mois post-greffe a été réalisée afin d'évaluer le risque de rejet aigu cellulaire selon les recommandations (13). Les patients ayant bénéficié d'une regreffe ou décédés avant l'obtention d'une BTB étaient exclus, ainsi que ceux ayant uniquement des BTB non représentatives (pas assez de parenchyme pulmonaire analysable).

2. SCHEMA DE L'IMMUNOSUPPRESSION ET GESTION PREVENTIVE DES ANTI-INFECTIEUX ET DU RISQUE DE REJET

Tous les patients inclus dans l'étude ont bénéficié du même protocole de prise en charge dans le cadre de leur suivi de greffe du centre de Marseille. Le traitement immunosuppresseur d'induction comportait de la méthylprednisolone (15 mg/kg au

bloc opératoire en per-greffe, 6 mg/kg/j le premier jour, puis 2 mg/kg/j à J2 et J3, suivi par 1 mg/kg/j jusqu' à J8 et d'une décroissance progressive pour arriver à 0,5 mg/kg à J30), associé en l'absence de contre-indication (thrombopénie ou choc hémorragique), à des Globulines Anti-Thymocytes (ATG) de lapin (Institut Pasteur Mérieux, Lyon, France) à 1,5 mg/kg/j de J1 à J3. Un traitement par ciclosporine par voie intraveineuse continue était débuté dès J1 (avec un taux cible sérique à l'équilibre entre 250 et 350 ng/mL). Un relais par tacrolimus per os était réalisé dès que la prise orale était possible avec un objectif de taux résiduel entre 12 et 15 ng/mL. Le traitement immunosuppresseur de maintenance reposait sur une association de tacrolimus, mycophénolate mofetil et de corticoïdes avec une décroissance progressive pour un sevrage complet à 1 an post greffe.

Les traitements prophylactiques et préemptif anti-infectieux (antibactérien, antiviral et antifongique) suivait également les protocoles de l'équipe et étaient adaptés au statut infectieux de chaque receveur et du donneur au moment du prélèvement.

Une prophylaxie antibiotique post-greffe immédiat était réalisée à minima par Ceftriaxone ou adaptée aux colonisations bronchiques antérieures. La durée de la prophylaxie était de 14 jours chez les patients atteints de mucoviscidose et de 7 jours pour les autres. Une prophylaxie préemptive anti-Cytomégalo virus (CMV) était réalisée par Ganciclovir en intraveineux relayée par Valganciclovir orale dès que possible, pour 3 mois en cas de mismatch à haut risque (donneur séropositif/ receveur séronégatif) et de 14 jours pour les autres. Des nébulisations bi-quotidiennes d'Amphotéricine-B était réalisées chez tous pour la prophylaxie antifongique. Les patients colonisés en pre-greffe par l'Aspergillus bénéficiés d'un traitement systémique par Voriconazole pour 3 mois.

Les réactivations à CMV étaient définies comme l'association d'une PCR sanguine positive (supérieure à 500 copies/mL) associée à une antigénémie pp65 positive (au moins 1 cellule pour 200 000) et étaient traitées par Ganciclovir IV ou Valganciclovir orale jusqu'à 2 PCR négatives.

Le suivi par des explorations fonctionnelles respiratoires (EFR) était réalisé régulièrement par l'équipe médicale de greffe selon les recommandations de l'American Thoracic Society (ATS) et de l'European Respiratory Society (ERS) (14). Ce suivi était fait de façon systématique lors de chaque visite (mensuelle), lors d'une diminution des valeurs spirométriques contrôlées à domicile et télétransmises par

Internet (Spirotel®) (15) ou enfin lorsque la clinique l'imposait avec l'apparition d'une symptomatologie respiratoire (dyspnée, fièvre, toux, expectorations).

En présence d'une chute du volume expiratoire maximal par seconde (VEMS) au Spirotel ® de plus de 10% de la valeur de base sur 2 jours consécutifs, une documentation était systématiquement programmée dans le centre de greffe avec : un contrôle des EFR, une imagerie thoracique (radiographie standard ou tomodensitométrie selon le contexte et les antécédents), et le plus souvent une fibroscopie bronchique (évaluation des sutures bronchiques selon la classification MDS reconnue des complications (16)), avec lavage broncho-alvéolaire (LBA) et BTB. Une infection respiratoire basse était définie par la mise en évidence d'une documentation bactérienne, fongique ou virale par examen des expectorations, de l'aspiration bronchique, du LBA ou des hémocultures, ou par détection d'ADN (réactions en chaînes par polymérase (PCR)) associée à un syndrome inflammatoire biologique, une symptomatologie clinique et une imagerie radiologique pulmonaire compatible. En cas d'infection documentée, un traitement adapté était réalisé pour une durée adaptée à l'évolution, à l'efficacité et à la tolérance.

La réalisation d'une fibroscopie avec BTB étaient systématique à la 4^{ème} semaine post-greffe afin de ne pas méconnaître un RAC initial. D'autre part, elle était envisagée dans le suivi en cas de perte de fonction respiratoire, définie comme une diminution significative du VEMS aux EFR par rapport au meilleur VEMS après exclusion des autres causes (infections, insuffisance cardiaque, embolie pulmonaire...).

La présence d'un RAC était définie selon la classification de l'International Society of Heart and Lung Transplantation (ISHLT) comme des anomalies histologiques tissulaires mises en évidence sur une BTB (13), et entraînait un traitement par bolus IV de méthylprednisolone de 3 à 5 mg/kg/j pendant 3 jours suivi d'une décroissance progressive.

3. DONNEES RECUEILLIES

Les données cliniques concernant les caractéristiques du donneur et du receveur, les conditions post-opératoires précoces et les complications aux longs cours ont été recueillies dans le dossier personnalisé de chaque patient.

Les données biologiques issu d'échantillons de sang réalisés juste avant la TP (J0), et tous les prélèvements fait en post-greffe dans le CHU de Marseille étaient envoyés au laboratoire d'hématologie biologique (APHM, CHU Hôpital Nord, Aix Marseille Université, France) pour analyse de la NFS (ADVIA hematology analyzer, Bayer, Leverkusen, Germany). L'analyse des SPLy (immunophénotypage) à partir d'échantillons de sang était réalisée dans les laboratoires d'Immunologie et d'Hématologie de la Conception. Dans le protocole de notre centre, les SPLy étaient systématiquement évaluées une fois par semaine lors du premier séjour d'hospitalisation post-greffe et lors de chaque visite ambulatoire par la suite.

Pour l'immuno-phénotypage des SPLy, les leucocytes et lymphocytes totaux étaient obtenus à partir des rapports de laboratoire. Les sous-populations de lymphocytes ont été caractérisées et calculées en pourcentage des lymphocytes totaux par cytométrie en flux selon les marquages suivant : lymphocytes T (CD3+), lymphocytes B (CD19+), lymphocytes B activés (CD19+/CD5+), cellules NK (CD3-/CD16+/CD56+) et lymphocytes T-NK (CD3+/CD16+/CD56+). Les phénotypages ont été réalisées à partir du sang total (50 µL). Les tubes ont été préparés avec le système COULTER® TQ-Prep (Beckman Coulter, Marseille, France), qui comprend une lyse des globules rouges. Le sang total était préparé avec 10 µL de chaque anticorps (Beckman Coulter) pendant 15 min. La quantification des SPLy a été réalisée avec un cytomètre de flux Navios (Beckman Coulter), et les données analysées directement sur le logiciel d'acquisition.

4. ANALYSE STATISTIQUE

Une analyse descriptive a été effectuée sur l'ensemble de la cohorte et par groupe selon leur statut à 1 mois de greffe « Pas de rejet » ou « Rejet aigu cellulaire » obtenu à partir de BTB systématique de M1. Les variables continues ont été exprimées en médianes et interquartiles ou moyennes et écarts-types selon la distribution (test de Shapiro-Wilk) et les variables qualitatives exprimées en nombres et pourcentages.

Des analyses ont été réalisées pour comparer les caractéristiques des deux groupes. Les paramètres qualitatifs ont été comparés à l'aide des tests Chi-2. Les paramètres quantitatifs ont été comparés en utilisant un test de Student ou un test non paramétrique de Mann-Whitney selon les conditions d'application.

Les comparaisons entre les groupes des cinétiques des comptes leucocytaires (NFS et SPLy), dont les mesures ont été répétées dans le temps, ont été réalisées à l'aide du modèle linéaire mixte. Les intervalles de confiances à 95% de ce modèle ont été calculés par méthode bootstrap à 1000 répliques. L'analyse multivariée a été réalisée avec l'ensemble des variables retrouvées associées significativement au rejet aigu cellulaire en analyse univariée avec $p < 0,05$.

Tous les tests étaient bilatéraux. Une valeur $p < 0,05$ a été considérée comme significative. L'analyse a été effectuée en utilisant la version 3.5.1 (2018-07-02) du logiciel de R (R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>).

VI. RESULTATS

Population

Parmi les 181 receveurs éligibles sur la période d'étude, 130 ont été inclus (**Figure 1**). Vingt-trois patients ont eu un RAC sur les BTB à 1 mois post-greffe. L'âge médian des receveurs était de 50 ans, Interquartiles [35-58] au moment de la greffe. Trente-neuf (30%) étaient transplantés dans le cadre d'une mucoviscidose, 54 (42%) d'un emphysème-BPCO et 25 (19%) d'un processus de fibrose pulmonaire/pathologie interstitielle diffuse. Les caractéristiques des patients inclus sont décrites dans le **Tableau 1**.

Il a été retrouvé un temps d'ischémie froide significativement plus élevé dans le groupe de patient ayant eu un RAC à 1 mois comparativement au groupe sans rejet avec respectivement une médiane à 375 minutes, Interquartiles [354-410] versus 359 minutes, Interquartiles [319-390], $p = 0,029$. L'âge des receveurs étaient significativement moins élevés dans le groupe rejet comparativement au groupe sans rejet avec un âge médian de 42 ans, Interquartiles [24-53] versus 54 ans, Interquartile [37-60], $p = 0,009$.

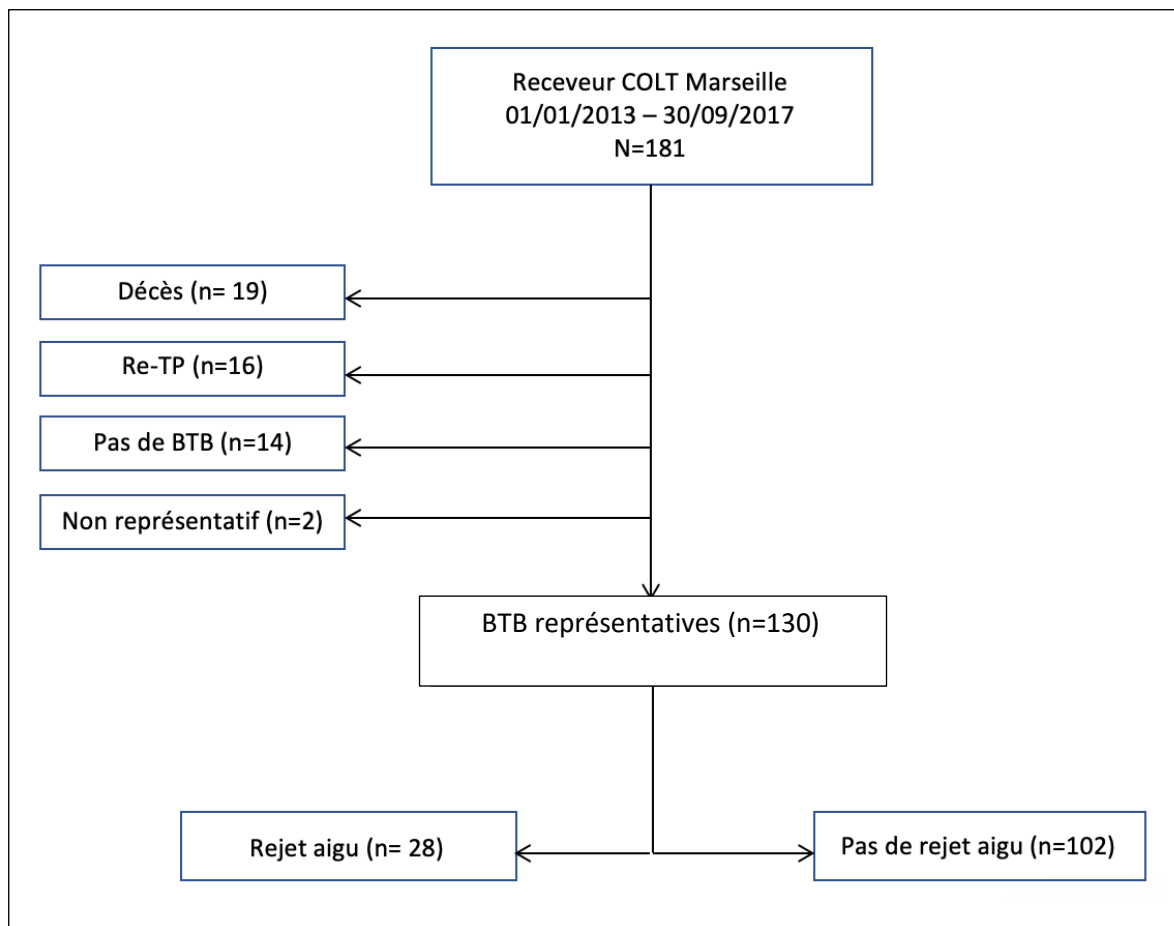


Figure 1: Diagramme de flux de la population incluse dans l'étude. COLT :
Cohort On Lung Transplantation ; TP : Transplantation Pulmonaire ; BTB : Biopsies
Trans-Bronchiques.

	Cohorte n= 130	Pas de Rejet Aigu Cellulaire n=102	Rejet Aigu Cellulaire n=28	p
Caractéristiques du donneur				
Sexe (homme)	72 (55%)	54 (53%)	18 (64%)	0,29
Age (Années)	50 [35-58]	50 [36-59]	39 [27-55]	0,054
Cause du décès				
<i>Traumatisme crânien</i>	31 (24%)	20 (20%)	11 (39%)	
<i>Accident vasculaire cérébral</i>	77 (59%)	66 (65%)	11 (39%)	
<i>Suicide</i>	12 (9%)	10 (10%)	2 (7%)	0,07
<i>Anoxie</i>	6 (5%)	4 (4%)	2 (7%)	
<i>Autres</i>	4 (3%)	2 (2%)	2 (7%)	
PaO2/FiO2 (ratio)	436 [357-468]	441 [357-476]	418 [369-453]	0,40
Ischémie froide (min)	366 [327-392]	359 [319-390]	375 [354-410]	0,029
Caractéristiques du receveur				
Sexe (homme)	69 (47%)	52 (51%)	17 (61%)	0,36
Age (Années)	51 [33-60]	54 [37-60]	42 [24-53]	0,009
Poids (kg)	58 [49-71]	57 [49-70]	63 [48-76]	0,32
Taille (cm)	166 ± 9	166 ± 9	167 ± 9	0,52
IMC (kg/m2)	21,4 [18,0-25,1]	20,6 [18,0-25,1]	23,7 [18,2-25,2]	0,38
Pathologie initiale				
<i>Mucoviscidose</i>	39 (30%)	26 (25%)	13 (46%)	
<i>Emphysème-BPCO</i>	54 (42%)	43 (42%)	11 (39%)	0,12
<i>PID fibrosante</i>	25 (19%)	22 (22%)	3 (11%)	
<i>Autres</i>	12 (9%)	11 (11%)	1 (4%)	
Colonisation bactérienne	73 (57%)	59 (58%)	14 (52%)	0,58
Colonisation mycotique	38 (29%)	28 (27%)	10 (37%)	0,33
Mismatch CMV à haut risque	6 (5%)	4 (4%)	2 (7%)	0,47
Mismatch EBV à haut risque	7 (5%)	5 (5%)	2 (7%)	0,64
Diabète	20 (15%)	16 (16%)	4 (14%)	0,86
Réanimation post-greffe				
IGS2 (score)	37 ± 8	38 ± 8	36 ± 9	0,53
Duré de ventilation mécanique (jours)	6 [2-23]	6 [2-23]	7 [2-23]	0,95
DPG nécessitant sortie sous ECMO	44 (34%)	34 (33%)	10 (37%)	0,72
Durée ECMO (jours)	3 [2-4]	3 [2-5]	3 [1-3]	0,22

Tableau 1 : Caractéristiques cliniques peropératoires donneurs et receveurs.

BPCO : Broncho-pneumopathie Chronique Obstructive ; CMV : CytoMegaVirus;

DPG : Dysfonction Primaire du Greffon ; EBV : Eipstein-Barr Virus; ECMO :

ExtraCorporeal Membrane Oxygenation; FiO2 : Fraction inspiré en Oxygène ; IGS2 :

Indice de Gravité Simplifié II ; IMC : Indice de Masse Corporelle ; PaO2 : Pression

artérielle en Oxygène ; PID : Pneumonie Interstitielle Diffuse.

Complications post-greffes

Les rejets de Grade A1 (bas grade) étaient majoritairement retrouvés aux BTB à 1 mois post-greffe (n=23, 82%). Il n'a pas été mis en évidence de différence de survenue d'infections ou d'anticorps anti-HLA entre les groupes à 1 mois mais également la première année post-greffe (**Tableau 2**).

	Cohorte n= 130	Pas de Rejet Aigu Cellulaire n=102	Rejet Aigu Cellulaire n=28	p
Rejet aigu cellulaire				
Grade A1		-	23 (82%)	
Grade A2		-	3 (11%)	
Grade A3		-	2 (7%)	
Temps BTB (jours)	29 [25-33]	28 [25-32]	30 [26-34]	0,32
Infection				
1 mois	82 (64%)	64 (63%)	18 (69%)	0,54
6 mois	57 (46%)	43 (43%)	14 (56%)	0,24
12 mois	33 (27%)	22 (23%)	11 (44%)	0,09
Ac anti-HLA				
1 mois	88 (68%)	71 (70%)	17 (61%)	0,37
12 mois	105 (83%)	83 (85%)	22 (79%)	0,44
Ac anti-HLA spécifique du donneur				
1 mois	69 (53%)	54 (53%)	15 (54%)	0,95
12 mois	79 (63%)	62 (63%)	17 (61%)	0,81
Ac anti-HLA classe I				
1 mois	74 (57%)	62 (61%)	12 (43%)	0,09
12 mois	87 (69%)	72 (73%)	13 (54%)	0,10
Ac anti-HLA classe II				
1 mois	54 (42%)	40 (39%)	14 (50%)	0,53
12 mois	70 (56%)	52 (53%)	18 (64%)	0,52

Tableau 2 : Complications post-greffes (Infections, rejet et anticorps anti-HLA) selon les groupes. Ac : Anticorps ; HLA : Human Leukocyte Antigen ; BTB : Biopsie Trans-bronchiques.

Cinétiques des populations leucocytaires à la NFS

L'étude de la cinétique des populations leucocytaires (**Figure 2**), montrait pour les neutrophiles une ascension progressive jusqu'à J10 pouvant être attribuée au contexte post-opératoire, aux bolus de corticoïdes (démargination) ou aux infections précoces. Il a été observé ensuite une décroissance progressive de cette population. Toutes les autres populations (lymphocytes, monocytes, éosinophiles et basophiles) étaient fortement déprimées en post-greffe immédiat, sous l'effet du traitement immunosuppresseur d'induction, avec un nadir vers J3-J4. Il a été observé par la suite une ré-ascension progressive de ces différentes populations.

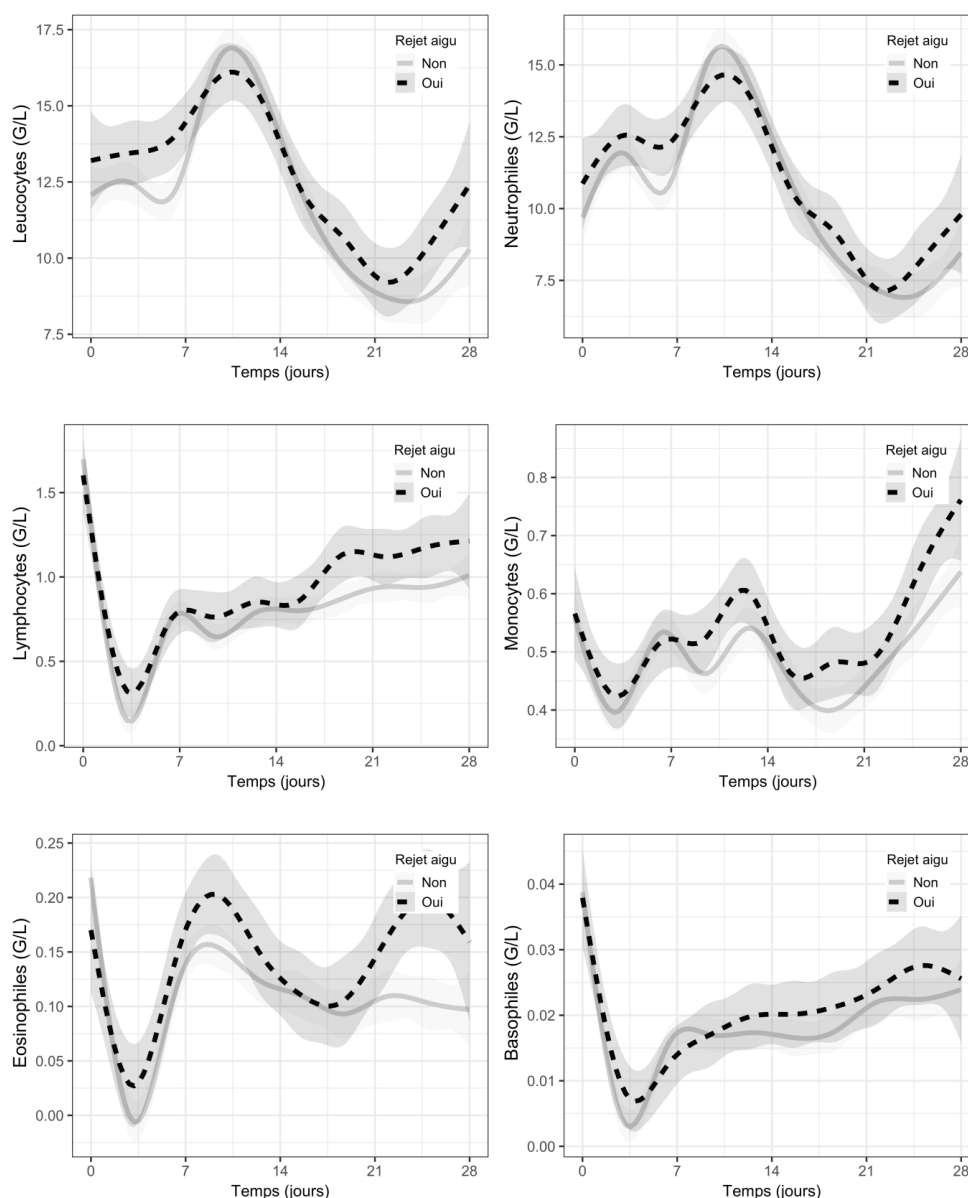


Figure 2 : Cinétique des sous-populations leucocytaires à la NFS. Les comptes cellulaires sont exprimés en giga/L et sont représentés de J0 (valeurs pré-greffes) à J28. Les courbes représentent les moyennes lissées par méthode loess (local polynomial regression fitting) avec leur intervalle de confiance en fonction des groupes

Cinétiques des sous-populations lymphocytaires

L'étude de la cinétique des SPLy (**Figure 3**) a montré une dépression de l'ensemble des populations avec un nadir à J7, pouvant être attribué au traitement immunosuppresseur d'induction. Seule la population de lymphocytes B activés (CD5+) connaît une cinétique progressivement croissante, dans le groupe RAC principalement.

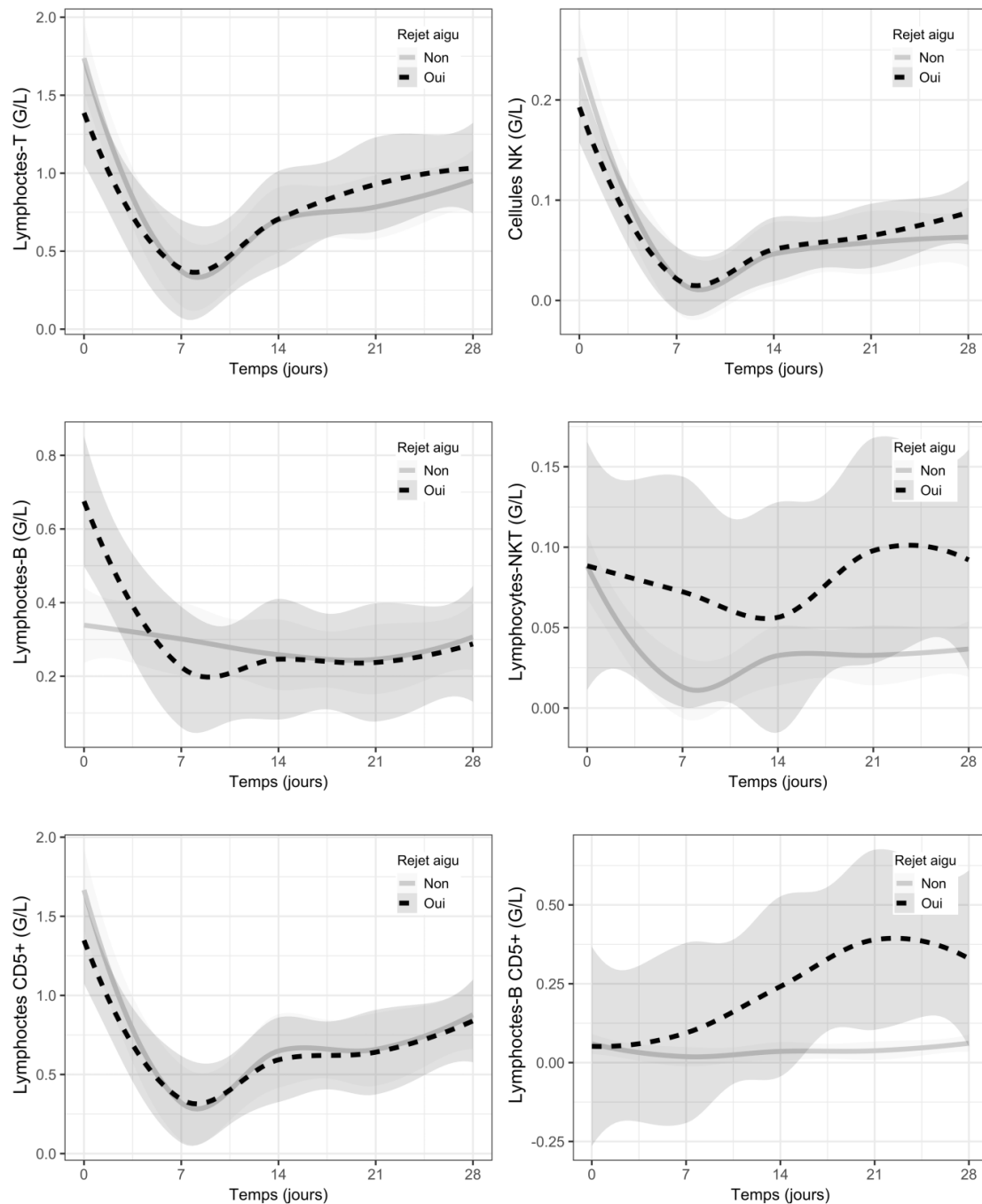


Figure 3 : Cinétique des sous-populations lymphocytaire. Les comptes cellulaires sont exprimés en giga/L et sont représentés de J0 (valeurs pré-greffes) à J28. Les courbes représentent les moyennes lissées par méthode loess (local polynomial regression fitting).

Cinétiques leucocytaires en fonction des groupes

L'analyse multivariée par modèle linéaire mixte a révélé des comptes d'éosinophiles et de lymphocytes B activés (CD5+) plus élevés dans le groupe RAC par rapport aux patients n'ayant pas développé de RAC à 1 mois post-greffe (**Tableau 3**).

Population	Univarié			Multivarié		
	Coefficient (G/L)	Bootstrap [IC95%]	p	Coefficient (G/L)	Bootstrap [IC95%]	p
Numération Formule sanguine						
<i>Leucocytes</i>	0,62	[-0,69 ; 1,91]	0,37			
<i>Neutrophiles</i>	0,17	[-1,01 ; 1,33]	0,78			
<i>Lymphocytes</i>	0,28	[0,04 ; 0,55]	0,03	0,11	[-0,14 ; 0,26]	0,35
<i>Monocytes</i>	0,05	[-0,04 ; 0,13]	0,28			
<i>Éosinophiles*</i>	0,06	[0,02 ; 0,10]	0,002	0,04	[0,01 ; 0,08]	0,025
<i>Basophiles</i>	0,006	[0,001-0,01]	0,09			
Phénotypage lymphocytaire sanguin						
<i>Lymphocytes T</i>	0,14	[-0,18 ; 0,47]	0,38			
<i>Lymphocytes NK</i>	0,02	[-0,005 ; 0,04]	0,14			
<i>Lymphocytes NKT</i>	0,04	[0,002 ; 0,075]	0,039	0,03	[-0,002 ; 0,070]	0,09
<i>Lymphocytes B</i>	-0,007	[-0,14 ; 0,12]	0,92			
<i>Lymphocytes CD5+</i>	-0,04	[-0,39 ; 0,30]	0,82			
<i>Lymphocytes B CD5+</i>	0,22	[0,06 ; 0,39]	0,008	0,19	[0,01 ; 0,36]	0,03

Tableau 3 : Analyses uni- et multivariées des cinétiques des comptes cellulaires par modèle linéaire mixte en fonction des groupes RAC et pas RAC à 1 mois.

L'analyse a été réalisée sur les dosages de J14 à J28, excepté pour les éosinophiles où l'analyse a été réalisée sur les dosages de J8 à J28*. L'ajustement dans l'analyse multivariée a été réalisé sur le temps d'ischémie froide et l'âge du receveur (cf Tableau 1). Le coefficient représente l'estimation beta du modèle et représente la différence quantitative [et son intervalle de confiance à 95%, IC95%] de comptes cellulaires dans le groupe RAC par rapport au groupe pas de RAC.

Particularité des cinétiques des éosinophiles

La différence quantitative du compte des éosinophiles au cours du temps n'était pas majeure entre les groupes + 0,04 G/L, IC95% [0,01 ; 0,08] dans le groupe RAC par rapport aux patients sans RAC (cf Tableau 3). En revanche nous avons pu observer à

l'échelle individuelle des pics plus marqués de compte d'éosinophiles chez les patients ayant développé un RAC (**Figure 4**).

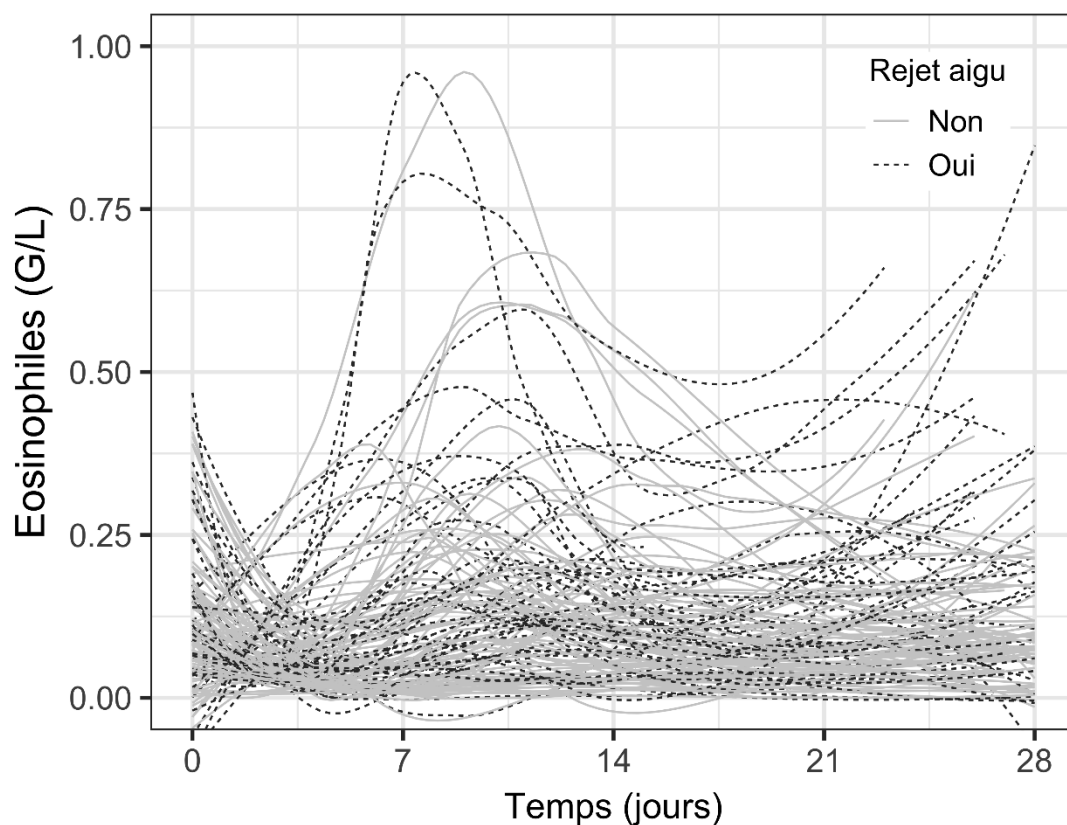


Figure 4 : Cinétique individuelle des éosinophiles dans le temps de chaque patient. Les comptes cellulaires sont exprimés en giga/L et sont représentés de J0 (valeurs pré-greffes) à J28.

En effet, seules les valeurs d'éosinophiles (de chaque individu) au-dessus du 95^{ème} percentile ont été retrouvées significativement plus élevées dans le groupe RAC par rapport aux patients sans RAC : médiane des valeurs au 95^{ème} percentile à 0,288 G/L, Interquartiles [0,234-0,469] et 0,256 G/L, Interquartiles [0,145-0,335] respectivement, $p=0,024$ (**Tableau 4**).

Éosinophiles (G/L)				
	Rejet	médiane	IQR	p
25ème	Non	0,026	[0,011-0,048]	0,20
	Oui	0,030	[0,020-0,071]	
50ème	Non	0,080	[0,036-0,110]	0,43
	Oui	0,075	[0,050-0,141]	
75ème	Non	0,136	[0,070-0,190]	0,11
	Oui	0,140	[0,104-0,243]	
95ème	Non	0,256	[0,145-0,335]	0,024
	Oui	0,288	[0,234-0,469]	

Tableau 4 : Percentiles des comptes des éosinophiles en fonction des groupes.

IQR : Interquartiles.

Taux de lymphocytes B pré-greffe

Les lymphocytes B en pré-greffe (J0) étaient significativement plus élevés dans le groupe RAC avec 0,26 G/L, Interquartiles [0,20-0,80] comparativement au groupe sans RAC avec 0,20 G/L, Interquartiles [0,13-0,36], $p = 0,038$ (**Figure 5**).

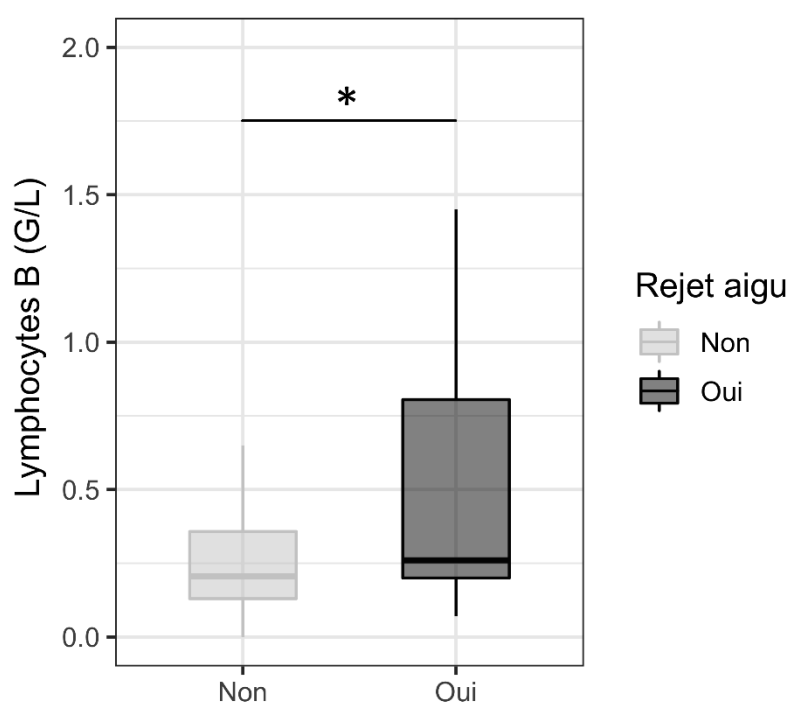


Figure 5 : Boîte à moustaches des lymphocytes B à J0 en fonction des groupes.

* : $p < 0,05$.

Cinétiques des populations leucocytaires la première année post-greffe

Dans notre population, 46 patients ont développé un RAC au cours de la première année (34 grades A1, 9 grades A2, et 3 grades A3). Nous avons ainsi évalué la cinétique des populations leucocytaires la première année post-greffe obtenues à la NFS en fonction de la survenue du RAC. Toutes les NFS obtenues après la survenue d'un RAC ont été censurées.

L'analyse par modèle linéaire mixte a retrouvé les mêmes tendances que sur l'analyse réalisée avant J28. Les comptes d'éosinophiles la première année post-greffe étaient plus élevés dans le groupe RAC par rapport aux patients n'ayant pas développé de RAC à 1 an post-greffe (**Figure 6** et **Tableau 5**).

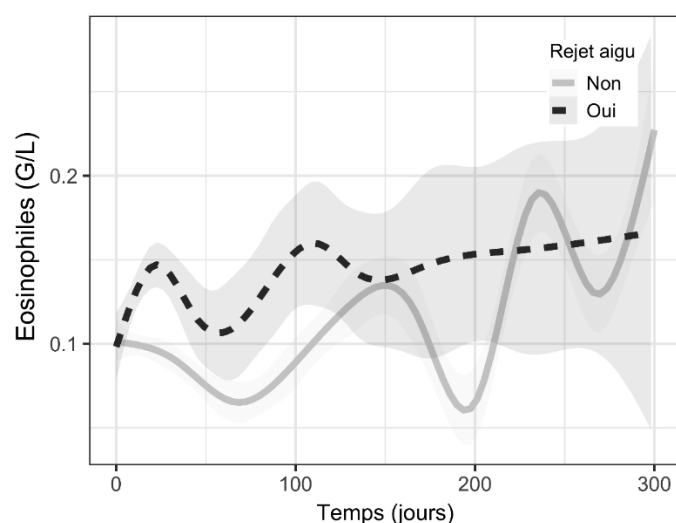


Figure 6 : Cinétique des éosinophiles la première année post-greffe. Les comptes cellulaires sont exprimés en giga/L et sont représentés de J0 (valeurs pré-greffes) à J300. Les courbes représentent les moyennes lissées par méthode loess (local polynomial regression fitting) avec leur intervalle de confiance en fonction des groupes.

		Univarié	
Population	Coefficient (G/L)	Bootstrap [IC95%]	p
Numération Formule sanguine			
<i>Leucocytes</i>	0,55	[-0,63 ; 1,84]	0,39
<i>Neutrophiles</i>	0,32	[-0,80 ; 1,48]	0,56
<i>Lymphocytes</i>	-0,03	[-0,37 ; 0,38]	0,87
<i>Monocytes</i>	0,10	[-0,008 ; 0,21]	0,06
<i>Éosinophiles</i>	0,06	[0,02 ; 0,11]	0,006
<i>Basophiles</i>	0,005	[-0,001-0,01]	0,12

Tableau 5 : Analyses uni-variées des cinétiques des comptes cellulaires par modèle linéaire mixte en fonction des groupes RAC et pas RAC à 1 an. L'analyse a été réalisée sur les dosages de J60 et J30. Le coefficient représente l'estimation beta du modèle et représente la différence quantitative [et son intervalle de confiance à 95%, IC95%] de comptes cellulaires dans le groupe RAC par rapport au groupe pas de RAC.

VII. DISCUSSION :

Cette étude montre qu'un taux d'éosinophiles sanguin et un taux de lymphocytes B activés étaient significativement reliés au RAC dans notre cohorte à un mois de la greffe pulmonaire. Ces marqueurs sanguins sont précoces et prédictifs du RAC et semblent impliqués dans les mécanismes physiopathologiques immunologiques du phénomène de rejet aigu.

Notre étude a confirmés sur un effectif plus large qu'un taux d'éosinophiles sanguins élevé pouvait précéder le RAC lors du premier mois dans la greffe de poumon (10). L'association entre les polynucléaires éosinophiles sanguins et le rejet aigu de greffe a été plusieurs fois démontrée dans d'autres greffes d'organe également (rénales et hépatiques principalement) (17–21). Les éosinophiles sont des granulocytes représentant moins de 5% des leucocytes sanguins. Les éosinophiles pourraient moduler la réponse du système immunitaire en menant au RAC. Ils sont capables de présenter un antigène (22–24), de provoquer une chimio attraction des cellules T effectrices et mémoires grâce à des chimiokines (25). Les éosinophiles libèrent des protéines cationiques toxiques stockées dans leurs granules secondaires lors de stimulation par des interleukines (26). Ils ont aussi une capacité directe à moduler les cellules résidentes dans les tissus/organes (par exemple, l'adhésion endothéliale, l'activation épithéliale, l'activation des fibroblastes) et à améliorer les réponses d'autres leucocytes (comme les neutrophiles et les macrophages), ceci permettant de réguler la phase aiguë de la réponse inflammatoire (27,28). Tous ces mécanismes peuvent expliquer le rôle des éosinophiles dans le RAC en greffe pulmonaire et expliquent qu'ils peuvent endommager les poumons en dégradant le tissu conjonctif et léser les structures épithéliales et micro-vasculaires (29,30).

Les lymphocytes B jouent un rôle essentiel dans la défense de l'hôte. Nous avons retrouvé dans notre étude qu'un taux élevé en pré greffe était associé à un risque de RAC plus élevé. Le RAC est reconnu comme un processus dépendant des lymphocytes T et les lymphocytes B sont plutôt considérées comme les médiateurs du rejet aigu humoral mais leur rôle est probablement bien plus vaste.

En greffe rénale, il a été décrit qu'un répertoire plus grand de lymphocyte B en pré transplantation était un facteur de risque de RAC (31). Il a été retrouvé également une association entre un taux élevé de lymphocytes B, une résistance accrue aux

corticostéroïdes et une plus faible survie du greffon (32–34). D'autres études n'ont en revanche pas confirmé ces résultats (35–37). Il a été retrouvé une association entre le fort taux de lymphocyte B dans l'infiltrat de biopsies rénales et le RAC (38), renforçant notre hypothèse.

Il y a un intérêt grandissant ces dernières années en greffe d'organe autour des lymphocytes B, de leurs anticorps, et de leurs relations avec les lymphocytes T (39). Les lymphocytes B aident à la reconnaissance des allo-antigènes et leur présentation aux lymphocytes T. On sait que les lymphocytes B activées ont le potentiel de soutenir les réponses des lymphocytes T en leur servant de cellules présentatrice d'antigène dans les organes lymphoïdes secondaires (40,41). La reconnaissance par le récepteur des lymphocytes B (BCR) de l'allo-antigène apparenté fournit un signal d'activation (42–44). Le BCR est également responsable de l'internalisation (endocytose) d'allo-antigènes qui sont dégradés et présentés via les molécules du CMH II aux lymphocytes T (45,46). Les lymphocytes B et T communiquent via des ligands. Ceux-ci permettent une action conjointe contre le non soi.

Plusieurs ligands co-stimulateurs exprimés sur les lymphocytes B induisent des interactions favorisant la différenciation des lymphocytes T en mémoire (47–49). La diminution du nombre de lymphocytes T mémoire alloréactifs chez les souris présentant un déficit pour la présentation de l'antigène par les lymphocytes B entraîne une altération de la fonction des lymphocytes T mémoire cytotoxiques et secondairement un RAC (50).

Les lymphocytes B activés sont capables de produire de l'IL (Interleukine)-10 (51). Chez les souris, ils secrètent de l'IL-10, responsable d'une inhibition de la production de cytokines pro-inflammatoires par les cellules dendritiques (52). Il s'ensuit un contrôle de la réponse inflammatoire, dépendant de la capacité des lymphocytes B activés à produire des taux élevés d'IL-10. Ils peuvent eux aussi exercer une activité régulatrice en réponse à une stimulation de leurs toll like receptor. Les lymphocytes B CD5⁺ contrôlent la prolifération des lymphocytes T. Cela nécessite un contact cellulaire impliquant la molécule CD40. Ce mécanisme d'action fonctionne en association avec des contacts cellulaires médiés par CD80 et CD86 (53). Dans notre étude un nombre élevé de B activés étaient associé au RAC, expliqué, en partie du moins, par ces mécanismes.

Notre étude comporte plusieurs limites. Notre population comporte beaucoup de rejet grade A1 (82%) qui sont des rejets de bas grade dont le lien avec la dysfonction du greffon est remis en cause (54). Nous avons analysé également nos résultats en fonction des grades mais les résultats n'étaient pas concluants, essentiellement dû à un manque de puissance étant donnée la faible incidence des rejets de hauts grade. Nous n'avons par ailleurs pas pu mettre en évidence de seuil discriminant de taux d'éosinophiles ou de lymphocyte B pour le diagnostic de RAC. Probablement car les taux sont influencés et varient selon de nombreux paramètres : en fonction du temps, du degré d'immunosuppression induite, des infections, ainsi que de l'immunité constitutionnelle.

VIII. CONCLUSION

Cette étude montre une association entre les taux précoces d'éosinophiles et de lymphocytes B activés et le RAC à un mois d'une greffe pulmonaire. Ainsi l'analyse des sous-population leucocytaires pourrait être utile pour mieux appréhender le risque de RAC précoce après TP et aider à guider l'immunosuppression chez les personnes à risque.

IX. BIBLIOGRAPHIE

1. Hosenpud JD, Bennett LE, Keck BM, Edwards EB, Novick RJ. Effect of diagnosis on survival benefit of lung transplantation for end-stage lung disease. *Lancet Lond Engl*. 3 janv 1998;351(9095):24-7.
2. Scheffert JL, Raza K. Immunosuppression in lung transplantation. *J Thorac Dis*. août 2014;6(8):1039-53.
3. Game DS, Lechler RI. Pathways of allorecognition: implications for transplantation tolerance. *Transpl Immunol*. août 2002;10(2-3):101-8.
4. Quantz MA, Bennett LE, Meyer DM, Novick RJ. Does human leukocyte antigen matching influence the outcome of lung transplantation? An analysis of 3,549 lung transplantations. *J Heart Lung Transplant Off Publ Int Soc Heart Transplant*. mai 2000;19(5):473-9.
5. Yusen RD, Edwards LB, Dipchand AI, Goldfarb SB, Kucheryavaya AY, Levvey

- BJ, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-third Adult Lung and Heart-Lung Transplant Report-2016; Focus Theme: Primary Diagnostic Indications for Transplant. *J Heart Lung Transplant Off Publ Int Soc Heart Transplant*. 2016;35(10):1170-84.
6. Verleden SE, Ruttens D, Vandermeulen E, Vaneylen A, Dupont LJ, Van Raemdonck DE, et al. Bronchiolitis obliterans syndrome and restrictive allograft syndrome: do risk factors differ? *Transplantation*. 15 mai 2013;95(9):1167-72.
 7. Hachem RR, Khalifah AP, Chakinala MM, Yusen RD, Aloush AA, Mohanakumar T, et al. The significance of a single episode of minimal acute rejection after lung transplantation. *Transplantation*. 27 nov 2005;80(10):1406-13.
 8. Tikkanen J, Lemström K, Halme M, Pakkala S, Taskinen E, Koskinen P. Cytological monitoring of peripheral blood, bronchoalveolar lavage fluid, and transbronchial biopsy specimens during acute rejection and cytomegalovirus infection in lung and heart-lung allograft recipients. *Clin Transplant*. avr 2001;15(2):77-88.
 9. Tikkanen J, Lemström K, Halme M, Pakkala S, Taskinen E, Koskinen P. Detailed analysis of cell profiles in peripheral blood, bronchoalveolar lavage fluid, and transbronchial biopsy specimens during acute rejection and CMV infection in lung and heart-lung allograft recipients. *Transplant Proc*. mars 1999;31(1-2):163-4.
 10. Trull A, Steel L, Cornelissen J, Smith T, Sharples L, Cary N, et al. Association between blood eosinophil counts and acute cardiac and pulmonary allograft rejection. *J Heart Lung Transplant Off Publ Int Soc Heart Transplant*. mai 1998;17(5):517-24.
 11. Kukafka DS, O'Brien GM, Furukawa S, Criner GJ. Surveillance Bronchoscopy in Lung Transplant Recipients. *Chest*. févr 1997;111(2):377-81.
 12. Diette GB, Wiener CM, White P. The higher risk of bleeding in lung transplant recipients from bronchoscopy is independent of traditional bleeding risks: results of a prospective cohort study. *Chest*. févr 1999;115(2):397-402.
 13. Stewart S, Fishbein MC, Snell GI, Berry GJ, Boehler A, Burke MM, et al. Revision of the 1996 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of lung rejection. *J Heart Lung Transplant Off Publ Int Soc Heart Transplant*. déc 2007;26(12):1229-42.
 14. Brusasco V, Crapo R, Viegi G, American Thoracic Society, European Respiratory Society. Coming together: the ATS/ERS consensus on clinical

pulmonary function testing. *Eur Respir J*. juill 2005;26(1):1-2.

15. Guihot A, Becquemin M-H, Couderc L-J, Randrianarivelo O, Rivaud E, Philippe B, et al. Telemetric monitoring of pulmonary function after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation*. 15 mars 2007;83(5):554-60.
16. Dutau H, Vandemoortele T, Laroumagne S, Gomez C, Boussaud V, Cavailles A, et al. A new endoscopic standardized grading system for macroscopic central airway complications following lung transplantation: the MDS classification. *Eur J Cardio-Thorac Surg Off J Eur Assoc Cardio-Thorac Surg*. févr 2014;45(2):e33-38.
17. Sanada Y, Ushijima K, Mizuta K, Urahashi T, Ihara Y, Wakiya T, et al. Prediction of acute cellular rejection by peripheral blood eosinophilia in pediatric living donor liver transplantation. *Transplant Proc*. juin 2012;44(5):1341-5.
18. Rodríguez-Perálvarez M, Germani G, Tsochatzis E, Rolando N, Luong TV, Dhillon AP, et al. Predicting severity and clinical course of acute rejection after liver transplantation using blood eosinophil count. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant*. mai 2012;25(5):555-63.
19. De Groen PC, Kephart GM, Gleich GJ, Ludwig J. The eosinophil as an effector cell of the immune response during hepatic allograft rejection. *Hepatology*. sept 1994;20(3):654-62.
20. Lautenschlager I, von Willebrand E, Häyry P. Blood eosinophilia, steroids, and rejection. *Transplantation*. oct 1985;40(4):354-7.
21. Almirall J, Campistol JM, Sole M, Andreu J, Revert L. Blood and graft eosinophilia as a rejection index in kidney transplant. *Nephron*. 1993;65(2):304-9.
22. Shi H-Z, Xiao C-Q, Li C-Q, Mo X-Y, Yang Q-L, Leng J, et al. Endobronchial eosinophils preferentially stimulate T helper cell type 2 responses. *Allergy*. avr 2004;59(4):428-35.
23. MacKenzie JR, Mattes J, Dent LA, Foster PS. Eosinophils promote allergic disease of the lung by regulating CD4(+) Th2 lymphocyte function. *J Immunol Baltim Md 1950*. 15 sept 2001;167(6):3146-55.
24. Del Pozo V, De Andrés B, Martín E, Cárdbaba B, Fernández JC, Gallardo S, et al. Eosinophil as antigen-presenting cell: activation of T cell clones and T cell hybridoma by eosinophils after antigen processing. *Eur J Immunol*. juill 1992;22(7):1919-25.
25. Gutierrez-Ramos JC, Lloyd C, Kapsenberg ML, Gonzalo JA, Coyle AJ. Non-

redundant functional groups of chemokines operate in a coordinate manner during the inflammatory response in the lung. *Immunol Rev.* oct 2000;177:31-42.

26. Venge P. Eosinophil activity in bronchial asthma. *Allergy Proc Off J Reg State Allergy Soc.* juin 1994;15(3):139-41.

27. Puxeddu I, Ribatti D, Crivellato E, Levi-Schaffer F. Mast cells and eosinophils: a novel link between inflammation and angiogenesis in allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol.* sept 2005;116(3):531-6.

28. Lampinen M, Carlson M, Håkansson LD, Venge P. Cytokine-regulated accumulation of eosinophils in inflammatory disease. *Allergy.* août 2004;59(8):793-805.

29. Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, Barnéon G, Ghavanian N, Enander I, et al. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Engl J Med.* 11 oct 1990;323(15):1033-9.

30. Venge P, Dahl R, Fredens K, Peterson CG. Epithelial injury by human eosinophils. *Am Rev Respir Dis.* déc 1988;138(6 Pt 2):S54-57.

31. Pineda S, Sigdel TK, Liberto JM, Vincenti F, Sirota M, Sarwal MM. Characterizing pre-transplant and post-transplant kidney rejection risk by B cell immune repertoire sequencing. *Nat Commun.* 23 2019;10(1):1906.

32. Hippen BE, DeMattos A, Cook WJ, Kew CE, Gaston RS. Association of CD20+ infiltrates with poorer clinical outcomes in acute cellular rejection of renal allografts. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* sept 2005;5(9):2248-52.

33. Muorah MR, Brogan PA, Sebire NJ, Trompeter RS, Marks SD. Dense B cell infiltrates in paediatric renal transplant biopsies are predictive of allograft loss. *Pediatr Transplant.* mars 2009;13(2):217-22.

34. Tsai EW, Wallace WD, Gjertson DW, Reed EF, Ettenger RB. Significance of intragraft CD138+ lymphocytes and p-S6RP in pediatric kidney transplant biopsies. *Transplantation.* 27 oct 2010;90(8):875-81.

35. Kayler LK, Lakkis FG, Morgan C, Basu A, Blisard D, Tan HP, et al. Acute cellular rejection with CD20-positive lymphoid clusters in kidney transplant patients following lymphocyte depletion. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* avr 2007;7(4):949-54.

36. Scheepstra C, Bemelman FJ, van der Loos C, Rowshani AT, van Donselaar-Van der Pant KAMI, Idu MM, et al. B cells in cluster or in a scattered pattern do not

correlate with clinical outcome of renal allograft rejection. *Transplantation*. 27 sept 2008;86(6):772-8.

37. Bagnasco SM, Tsai W, Rahman MH, Kraus ES, Barisoni L, Vega R, et al. CD20-positive infiltrates in renal allograft biopsies with acute cellular rejection are not associated with worse graft survival. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. août 2007;7(8):1968-73.

38. Carpio VN, Noronha I de L, Martins HL, Jobim LF, Gil BC, Külzer AS, et al. Expression patterns of B cells in acute kidney transplant rejection. *Exp Clin Transplant Off J Middle East Soc Organ Transplant*. oct 2014;12(5):405-14.

39. Zarkhin V, Chalasani G, Sarwal MM. The yin and yang of B cells in graft rejection and tolerance. *Transplant Rev Orlando Fla*. avr 2010;24(2):67-78.

40. Malynn BA, Romeo DT, Wortis HH. Antigen-specific B cells efficiently present low doses of antigen for induction of T cell proliferation. *J Immunol Baltim Md* 1950. août 1985;135(2):980-8.

41. Zarkhin V, Lovelace PA, Li L, Hsieh S-C, Sarwal MM. Phenotypic evaluation of B-cell subsets after rituximab for treatment of acute renal allograft rejection in pediatric recipients. *Transplantation*. 15 mai 2011;91(9):1010-8.

42. van Zelm MC, Reisli I, van der Burg M, Castaño D, van Noesel CJM, van Tol MJD, et al. An antibody-deficiency syndrome due to mutations in the CD19 gene. *N Engl J Med*. 4 mai 2006;354(18):1901-12.

43. van Zelm MC, Smet J, Adams B, Mascart F, Schandené L, Janssen F, et al. CD81 gene defect in humans disrupts CD19 complex formation and leads to antibody deficiency. *J Clin Invest*. avr 2010;120(4):1265-74.

44. Thiel J, Kimmig L, Salzer U, Grudzien M, Lebrecht D, Hagena T, et al. Genetic CD21 deficiency is associated with hypogammaglobulinemia. *J Allergy Clin Immunol*. mars 2012;129(3):801-810.e6.

45. Mitchison NA. T-cell-B-cell cooperation. *Nat Rev Immunol*. avr 2004;4(4):308-12.

46. Mitchison A. Latent help to and from H-2 antigens. *Eur J Immunol*. janv 1992;22(1):123-7.

47. Linton P-J, Bautista B, Biederman E, Bradley ES, Harbertson J, Kondrack RM, et al. Costimulation via OX40L expressed by B cells is sufficient to determine the extent of primary CD4 cell expansion and Th2 cytokine secretion in vivo. *J Exp Med*.

7 avr 2003;197(7):875-83.

48. Akiba H, Oshima H, Takeda K, Atsuta M, Nakano H, Nakajima A, et al. CD28-independent costimulation of T cells by OX40 ligand and CD70 on activated B cells. *J Immunol Baltim Md 1950*. 15 juin 1999;162(12):7058-66.

49. Watts TH. TNF/TNFR family members in costimulation of T cell responses. *Annu Rev Immunol*. 2005;23:23-68.

50. Ng Y-H, Oberbarnscheidt MH, Chandramoorthy HCK, Hoffman R, Chalasani G. B Cells Help Alloreactive T Cells Differentiate Into Memory T Cells: B Cells Help Development of Alloreactive Memory T Cells. *Am J Transplant*. sept 2010;10(9):1970-80.

51. Lee JH, Noh J, Noh G, Choi WS, Lee SS. IL-10 is Predominantly Produced by CD19(low)CD5(+) Regulatory B Cell Subpopulation: Characterisation of CD19 (high) and CD19(low) Subpopulations of CD5(+) B cells. *Yonsei Med J*. 2011;52(5):851.

52. Sun C-M, Deriaud E, Leclerc C, Lo-Man R. Upon TLR9 Signaling, CD5+ B Cells Control the IL-12-Dependent Th1-Priming Capacity of Neonatal DCs. *Immunity*. avr 2005;22(4):467-77.

53. Lemoine S, Morva A, Youinou P, Jamin C. Human T cells induce their own regulation through activation of B cells. *J Autoimmun*. mai 2011;36(3-4):228-38.

54. Levy L, Huszti E, Tikkanen J, Ghany R, Klement W, Ahmed M, et al. The impact of first untreated subclinical minimal acute rejection on risk for chronic lung allograft dysfunction or death after lung transplantation. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 9 août 2019;

SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque.

Résumé

Introduction : La biopsie trans-bronchique (BTB) reste à ce jour l'examen de référence pour le diagnostic de rejet aigu cellulaire (RAC) après transplantation pulmonaire (TP) qui a une incidence élevée la première année autour de 30%. Cet examen n'est pas dénué de risque et la recherche d'alternatives plus aisées au diagnostic de RAC est un challenge important. L'objectif principal de cette étude était d'évaluer la valeur prédictive de la cinétique des sous-populations leucocytaires circulantes sanguines (NFS et sous-populations Lymphocytaires = SPLy) sur la survenue du RAC à un mois après transplantation pulmonaire diagnostiqué par BTB.

Matériels et méthodes : Nous avons étudié rétrospectivement les données biologiques de patients qui ont bénéficié d'une TP entre Janvier 2013 et Septembre 2017 dans notre centre et qui ont bénéficié d'une BTB à un mois post-greffe. Les cinétiques des NFS et SPLy ont été analysées par modèle linéaire mixte en fonction de la présence d'un RAC ou non sur les BTB.

Résultats : 130 patients ont été inclus. 23 patients ont eu un RAC sur les BTB à 1 mois post-greffe. Le temps d'ischémie froide et l'âge des receveurs ont été retrouvés significativement plus élevés dans le groupe de patients ayant eu un RAC à 1 mois comparativement au groupe sans rejet. L'analyse multivariée a révélé des comptes d'éosinophiles et de lymphocytes B activés (CD5+) le premier mois post-greffe plus élevés dans le groupe RAC par rapport aux patients n'ayant pas développé de RAC à 1 mois post-greffe avec respectivement un coefficient à +0,04 G/L, IC95% [0,01 ; 0,08], $p = 0,025$ et un coefficient à 0,19 G/L, IC95% [0,01 ; 0,36], $p = 0,03$. Par ailleurs, l'analyse des différentes populations leucocytaires en pré-greffe a révélé des lymphocytes B non activés significativement plus élevés dans le groupe RAC avec 0,26 G/L, Interquartiles [0,20-0,80] comparativement au groupe sans RAC avec 0,20 G/L, Interquartiles [0,13-0,36], $p = 0,038$.

Conclusion : Cette étude a montré une association entre des taux précoces d'éosinophiles et de lymphocytes B activés et le RAC à un mois d'une greffe pulmonaire. L'analyse des sous-population leucocytaires pourrait être un outil utile pour mieux appréhender le risque de RAC précoce après TP et aider à guider l'immunosuppression des personnes à risque.

Mots clés : Transplantation Pulmonaire ; Rejet Aigu Cellulaire ; Leucocytes circulants.