

Le hasard, l'erreur profitable, la chance dans le développement de la transplantation rénale

Serendipity, beneficial error, chance in the development of kidney transplantation

P. Kinnaert

Chef de Service honoraire, Hôpital Erasme

RESUME

Le hasard a joué un rôle essentiel dans deux développements majeurs de la transplantation d'organes : la méthode de perfusion continue du rein en hypothermie et l'introduction de la ciclosporine en clinique humaine. Une erreur de raisonnement est à la base de la composition d'un liquide de conservation efficace : la solution de Collins. Ces recherches n'auraient cependant pas pu aboutir sans l'ouverture d'esprit et la ténacité des cliniciens.

Rev Med Brux 2011 ; 32 : 52-7

ABSTRACT

Serendipity played an essential role in two major developments of organ transplantation : the method of continuous hypothermic perfusion of the kidney and the introduction of ciclosporin in the clinical setting. An erroneous reasoning lead to the creation of an efficient preservation fluid : Collins's solution. However, these investigations would have failed without the open-mindedness and the tenacity of the clinicians.

Rev Med Brux 2011 ; 32 : 52-7

Key words : kidney preservation, ciclosporin, serendipity

INTRODUCTION

La littérature scientifique actuelle offre une image de la recherche médicale qui ne correspond pas à la réalité. Les articles débutent habituellement par la description du but de l'étude basé sur une hypothèse qui est presque toujours confirmée par les résultats. Les conclusions négatives font rarement l'objet de publication. Les protocoles expérimentaux semblent dès lors découler logiquement d'idées elles-mêmes déduites de travaux antérieurs ou de faits d'observation. C'est oublier la part de tâtonnements, d'erreurs ou de hasard qui préside parfois aux innovations médicales. Ces facteurs ont joué un rôle primordial dans la mise au point des méthodes de conservation du rein et dans l'introduction de la ciclosporine en clinique humaine, deux innovations essentielles pour le développement de la transplantation d'organes.

LA CONSERVATION DU REIN

Les chirurgiens ne disposaient pas de moyen de

conserver les reins quand ils commencèrent à les transplanter chez l'homme. Avec un donneur vivant, cela ne posait pas trop de problèmes. Sa mise au point préopératoire démontrait qu'un de ses reins était utilisable et il suffisait de synchroniser le prélèvement avec la préparation des vaisseaux iliaques du receveur pour réduire le délai entre l'exérèse de l'organe et la revascularisation (la durée d'ischémie) au temps des sutures veineuse et artérielle. On greffait le rein rapidement soit sans autre manipulation soit après rinçage au sérum hépariné froid.

Avec les donneurs cadavériques, la situation était plus compliquée et posait des problèmes logistiques. On devait attendre que le chirurgien préleveur ait constaté que le rein était transplantable (absence de tumeur, de malformation congénitale ou d'anomalie vasculaire) pour commencer l'opération du receveur. De plus, les malades se trouvaient souvent dans des hôpitaux différents et il fallait amener le greffon de l'un à l'autre. Bref, les durées d'ischémie étaient plus longues. On essayait autant que possible de les

raccourcir en mobilisant la gendarmerie et dans quelques cas la force aérienne pour assurer le transport. Malgré cela, les possibilités d'échange entre les quelques centres de transplantation existant à l'époque restaient limitées.

On savait depuis le début du vingtième siècle que le froid ralentissait le métabolisme cellulaire et réduisait les besoins des tissus en oxygène^{1,2}. Les chirurgiens essayaient de protéger l'organe prélevé en le rinçant avec des solutions conservées au frigidaire et en l'entourant d'un mélange de liquide et de glaçons pour le transport. Chaque équipe avait son produit préféré : lactate Ringer, albumine, rhéomacrodex, mannitol mais la durée d'ischémie acceptable restait courte. Toute la procédure se déroulait dans l'urgence et l'on imagine aisément l'atmosphère fébrile qui régnait parfois dans les salles d'opération. Même dans ces conditions, beaucoup de receveurs présentaient des périodes d'anurie prolongées et il n'était pas rare qu'un greffon ne fonctionne pas du tout.

En 1966, à San Francisco, Folkert Belzer (Fred pour les amis) s'inspira des travaux des physiologistes étudiant le fonctionnement d'organes isolés pour bricoler un système de perfusion pulsatile à basse température qu'il essaya sur des reins de chien (figures 1 et 2). Avec du sang oxygéné, il observait inmanquablement au bout de soixante à nonante minutes, une augmentation de la pression de perfusion et les organes étaient inutilisables. Il remplaça le sang par du plasma oxygéné et put maintenir les reins sur la machine pendant six à dix heures avant de constater l'augmentation de pression dans le circuit. C'était un progrès mais aucun organe ne fonctionnait lorsqu'on le greffait. Belzer utilisait du plasma congelé de chien qu'il laissait pendant la nuit à température ambiante dans le laboratoire pour l'employer le lendemain. Un matin, il se rendit compte qu'il avait oublié la veille de sortir le flacon du congélateur. Pour ne pas perdre une journée de travail, il le plaça dans l'eau chaude et vit avec horreur apparaître un liquide trouble. Ne perdant pas courage, il filtra la mixture et constata avec satisfaction qu'il pouvait maintenir un rein sur sa machine avec ce produit pendant 24 heures. Répétant la même procédure dans les expériences suivantes, il réussit à prolonger la perfusion jusqu'à 72 h sans problème. Tous ces organes fonctionnaient après transplantation³. En fait, la décongélation rapide et la filtration éliminaient les lipoprotéines qui forment des microagrégats.

En 1967, la méthode fut appliquée à l'homme, le rein greffé fonctionna malgré une ischémie de 17 heures mais les cas suivants furent des échecs. A l'époque, les chirurgiens américains stoppaient encore le respirateur des malades en mort encéphalique et attendaient l'arrêt cardiaque avant de procéder à l'exérèse des organes. Outre l'anoxie résultant du manque de ventilation, les reins étaient soumis aux troubles vasomoteurs précédant l'arrêt circulatoire final. Belzer traita les donneurs avec des vasodilatateurs (régistine, dibenzylène) et le succès couronna enfin ses efforts ; les transplants produisaient de l'urine⁴. Son



Figure 1 : Folkert O. Belzer.

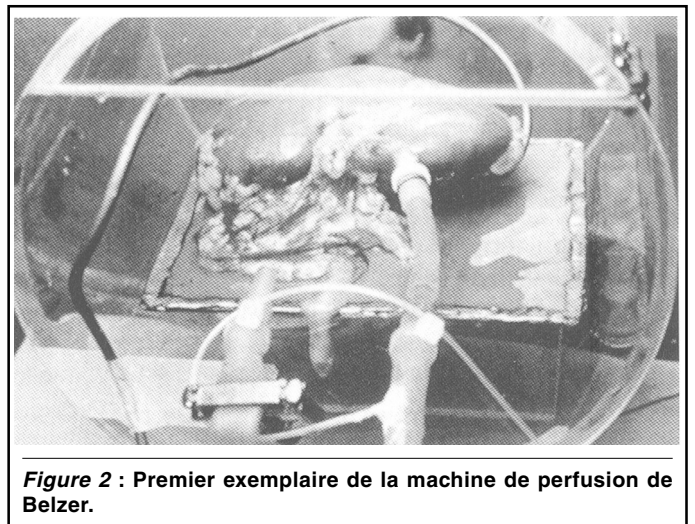


Figure 2 : Premier exemplaire de la machine de perfusion de Belzer.

appareil de perfusion rendu plus présentable fut commercialisé et adopté par de nombreux chirurgiens américains. L'efficacité de la méthode était cependant contrebalancée par la nécessité de faire voyager une machine assez encombrante dont une personne qualifiée devait surveiller le fonctionnement.

Les transplantateurs européens adoptèrent généralement une technique plus simple, elle aussi imaginée en Californie et basée sur une erreur de

raisonnement. Geoffrey Collins étudiait l'effet du froid sur des reins de chien dans le laboratoire de Paul Teresaki à Los Angeles. Il savait que des reins perfusés avec du sérum physiologique à 4 °C libéraient de grandes quantités de potassium et de magnésium. Il en déduisit que " cette perte d'ions peut résulter d'une incapacité des mécanismes de transport actif à contrebalancer la diffusion le long des gradients de concentration à basse température "5. Pour supprimer ces gradients, il rinça des reins de chien avec 150 ml d'une solution pauvre en sodium et riche en potassium et en magnésium imitant la composition électrolytique intracellulaire (tableau 1). Il les gardait ensuite pendant 30 h dans un mélange de sérum physiologique et de glace. Ces organes greffés à des animaux néphrectomisés fonctionnaient de manière satisfaisante. Ces données se vérifièrent en clinique humaine et l'on put même ultérieurement étendre la durée d'ischémie jusqu'à 48 heures au prix cependant d'un accroissement de la fréquence des cas d'anurie postopératoire réversible, la production d'urine se réinstallant plus tardivement. Durant la période de conservation, le rein ne nécessitait aucune surveillance. Il suffisait de le placer dans un bac isotherme qu'on pouvait confier à une hôtesse de l'air ou à un chauffeur de taxi pour l'amener au centre receveur. Le délai dont disposaient désormais les chirurgiens pour réaliser la greffe permettait d'utiliser les vols aériens réguliers pour le transport.

Tableau 1 : Solution C₂. Solution électrolytique équilibrée utilisée par Geoffrey Collins pour perfuser des reins de chien⁴.

Composants	g/l
KH ₂ PO ₄	2,05
KH ₂ PO ₄ - 3H ₂ O	9,70
K Cl	1,12
Na H CO ₃	0,84
Glucose	25,00
Mg SO ₄ - 7 H ₂ O	7,38

La méthode de Collins était un grand progrès mais l'explication de son efficacité était fautive. En confectionnant une solution dont la composition électrolytique correspondait au milieu intracellulaire, Collins obtenait un liquide hypotonique. Il avait donc ajouté du glucose pour aboutir à une osmolalité de 320 mosm/kg. En réalité, c'est ce dernier facteur qui expliquait l'effet protecteur du produit. Belzer montrait peu après qu'on pouvait inverser les concentrations de potassium et de sodium pour autant que la solution de conservation contienne suffisamment de glucose ou de sucrose et atteigne une osmolalité aux environs de 300 mosm/kg. Les équipes belges, hollandaises et allemandes affiliées à Eurotransplant qui venait d'être fondé en 1967 adoptèrent rapidement une version modifiée de la solution de Collins, l'Euro-Collins qui supprimait le sulfate de magnésium car ce produit se combinait au phosphate et formait un précipité de phosphate de magnésium. Plus tard, le sucrose remplaça le glucose qui pénètre dans les cellules où transformé en lactate, il provoque une acidose délétère (tableau 2).

Tableau 2 : Composition de diverses solutions utilisées pour conserver des reins.

		C ₂	Euro-Collins	Euro-Collins sucrose
Produits en mmol/l	Na	9	10	10
	K	108	108	108
	Mg	30	-	-
	Bicarb	9	10	10
	Cl	14	15	15
	PO ₄	47	60	60
	SO ₄	30	-	-
	Glucose	126	180	-
	Sucrose	-	-	180
Osmolalité (mosm/kg)		320	340	340
PH O °C		7,0	7,3	7,2

L'INTRODUCTION DE LA CICLOSPORINE EN CLINIQUE HUMAINE

En 1961, l'équipe de transplantation rénale du *Peter Bent Brigham Hospital* à Boston utilisa pour la première fois chez l'homme, une drogue immunosuppressive relativement manipulable : l'azathioprine. Les progrès dans la prévention et le traitement du rejet de la greffe furent ensuite très lents. A la fin des années 70, l'arsenal médicamenteux dont les transplantateurs disposaient à cet effet, se composait d'azathioprine, de corticoïdes et de divers *sera* antilymphocytaires. On avait réussi à faire passer l'espérance de vie des patients à un an de 60 % initialement à 90 % mais le pourcentage de greffons fonctionnels stagnait entre 50 et 60 % à un an⁶. Dans son autobiographie, Starzl affirme que l'introduction de la ciclosporine dans les schémas thérapeutiques révolutionna le domaine de la transplantation⁷. La drogue faillit cependant ne jamais sortir des laboratoires Sandoz à Bâle où elle avait été découverte. Elle était produite par une moisissure isolée d'un échantillon de terre collecté en Norvège pour un programme de recherche systématique de nouveaux antibiotiques. Elle avait été baptisée cyclosporine A (CSA), à l'époque écrite avec γ , A la distinguant d'autres polypeptides cycliques. Jean Borel (figure 3) montra dans une publication de 1976 que chez la souris, la CSA prolongeait nettement la survie d'allogreffes cutanées, inhibait la synthèse d'anticorps et agissait spécifiquement sur les lymphocytes. Contrairement à l'azathioprine, sa toxicité médullaire était négligeable. Borel concluait : " ... étant donné le faible degré de myélotoxicité, une évaluation des résultats obtenus dans les modèles animaux devrait, à une étape plus avancée, justifier une investigation dans des indications cliniques comme la transplantation d'organes ... "8. Cet article et une communication de Borel à la Société d'Immunologie à Londres eurent peu de retentissement.

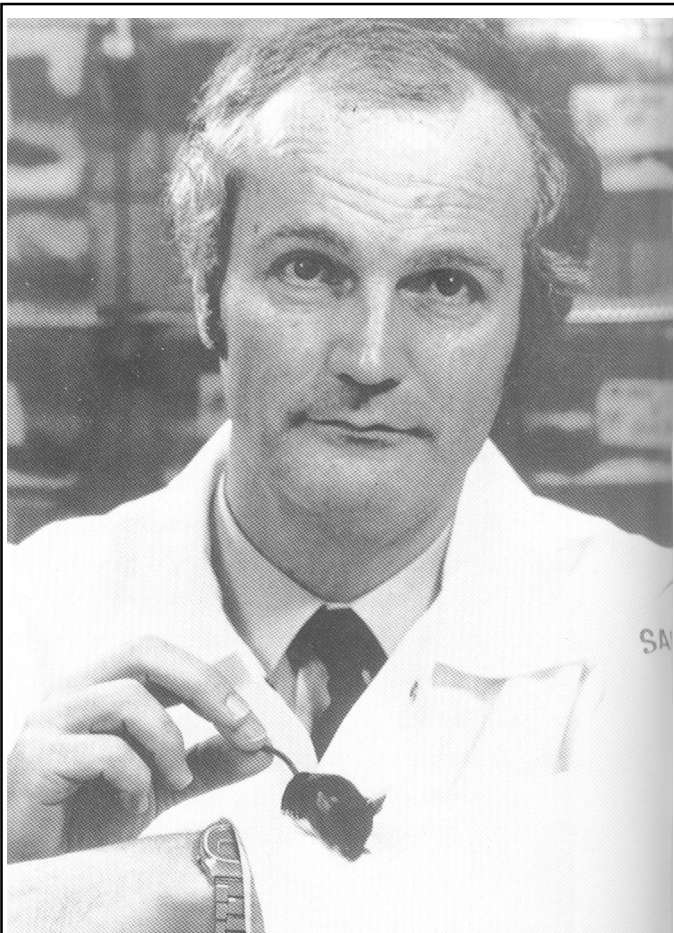


Figure 3 : Jean F. Borel.

Borel discuta après son exposé avec David White, un collaborateur de Roy Calne à Cambridge auquel il envoya un flacon de poudre de CSA qui fut rangé sur une étagère où il fut oublié.

Entre maintenant en scène un jeune chirurgien grec, A. Kostakis, qui avait été envoyé à Cambridge pour se perfectionner et améliorer son *curriculum vitae*. Il avait appris à réaliser des greffes cardiaques chez le rat mais ses travaux n'avaient conduit à aucune publication. Craignant de subir les foudres de son chef de service à son retour en Grèce pour ce manque de productivité, il alla supplier White de lui fournir un sujet de recherche qui permettrait en peu de temps d'écrire un article. White se souvint du flacon de CSA qui prenait la poussière sur une étagère et proposa de tester le produit sur les greffes cardiaques de rat. La CSA n'étant pas soluble dans l'eau, Kostakis l'administra dans de l'alcool aux animaux receveurs et les résultats qu'il obtint au bout de 2 mois étaient tellement extraordinaires que Roy Calne (figure 4) ne voulut pas les croire. Il suspectait Kostakis de s'être embrouillé dans les souches de rat et exigea que les expériences fussent recommencées. Kostakis utilisa alors une préparation de CSA dissoute dans l'huile d'olive que sa maman lui envoyait d'Athènes pour améliorer son ordinaire. L'effet était encore plus spectaculaire, la survie des allogreffes était quintuplée et il n'y avait aucun signe de myélotoxicité. Convaincu cette fois, Calne contacta la firme à Bâle pour obtenir de nouveaux échantillons de CSA et s'entendit

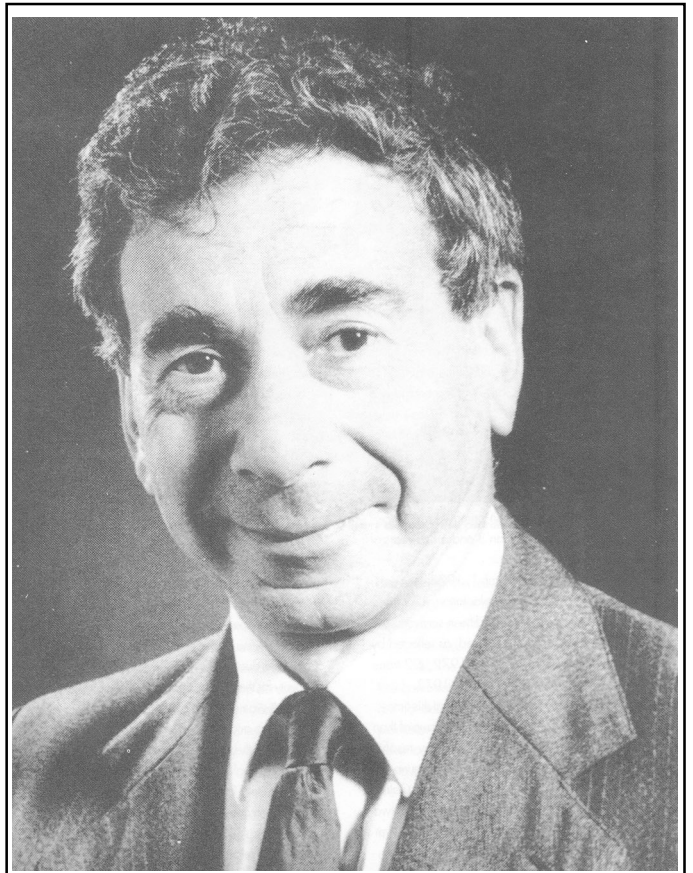


Figure 4 : Roy Y. Calne.

répondre que la production avait été arrêtée. La CSA n'avait qu'un faible pouvoir antifongique et n'intéressait pas les fabricants. Calne obtint cependant le stock de produit restant et put ainsi confirmer son efficacité sur des greffes de rein chez le chien et sur des greffes de foie chez le porc⁹. Le moment était venu de tester le nouveau médicament en clinique humaine ; les dirigeants de Sandoz acceptèrent de le fournir à quelques équipes sélectionnées.

L'étude pilote de Cambridge parut dans *Lancet* en novembre 1979, elle fut loin de convaincre la communauté des transplantateurs¹⁰. Certes, on comptait 26 reins de cadavre toujours en place après 32 transplantations mais aucun n'avait une fonction normale. Cinq malades étaient décédés dont 3 avec un lymphome. Les effets indésirables étaient fréquents ; outre la néphrotoxicité déjà mentionnée, on observait des altérations des tests hépatiques, de l'hypertrophie gingivale, de l'hypertrichose et des tremblements. D'autres équipes à Boston et en Europe obtenaient des résultats peu encourageants. Certains se mirent à douter du caractère éthique de ces essais cliniques. En réalité, le protocole d'immunosuppression était inadéquat. Il se composait uniquement de CSA. On espérait, grâce à la puissance de la nouvelle drogue, pouvoir se passer des corticoïdes dont les effets secondaires étaient responsables de la médiocre qualité de vie de nombreux patients. On les réservait au traitement des épisodes de rejet. En outre, on se rendit compte ultérieurement que les doses de CSA déduites de l'expérimentation animale étaient beaucoup trop élevées.

Devant la fréquence des complications et le coût de la production, la direction de Sandoz envisageait d'arrêter les études cliniques. Apprenant cela, Thomas Starzl (figure 5) parvint à persuader l'éditeur de la revue *Surgery, Gynecology and Obstetrics* de publier en priorité un article décrivant son expérience à Denver⁷. Il avait administré un cocktail de corticoïdes et de CSA à 22 receveurs dont la moitié avaient été en outre préparés à la greffe rénale par un drainage du canal thoracique ou une lymphaphérèse. Un seul était mort après une opération de chirurgie cardiaque, un autre avait fait un rejet irréversible et un troisième avait perdu son greffon par nécrose urétérale. Les 19 patients restants étaient porteurs d'un transplant fonctionnel avec un recul de 2 à 4 mois et demi. Les épisodes de rejet étaient facilement contrôlés avec des doses relativement faibles de prednisone et aucune néoplasie ne s'était développée¹¹. L'association de CSA avec les corticoïdes permettait de diminuer les doses de chacun des médicaments et par conséquent de réduire leur toxicité. La série de Denver était courte et la durée du suivi des malades nettement insuffisante mais Starzl prétend que ce fut un argument de poids pour convaincre les responsables de la firme de continuer à financer les essais cliniques qui confirmèrent les observations préliminaires favorables.



Figure 5 : Thomas E. Starzl.

En 1982, Beveridge, un médecin de la société Sandoz, rapportait au congrès international de la *Transplantation Society* les résultats de 800 greffes rénales traitées avec la CSA et concluait qu'elle était supérieure à l'azathioprine. Deux études randomisées étaient en cours au Canada et en Europe dont une analyse intérimaire révélait que la nouvelle drogue améliorait de 15 à 20 % la survie des greffes rénales¹².

Les programmes de transplantation des autres organes (foie, pancréas, cœur, poumon) qui étaient quiescents allaient enfin démarrer sur la foi de ces informations optimistes.

COMMENTAIRES

La sagesse populaire dit que le hasard fait parfois bien les choses. Bien sûr, l'oubli de Belzer l'obligea à décongeler rapidement du plasma ce qui n'était pas prévu dans le protocole de recherche. Mais lorsqu'il s'aperçut que le liquide était trouble, il aurait pu légitimement abandonner l'expérience. Au contraire, il filtra la suspension et obtint la solution de son problème. Son obstination fut donc aussi un facteur important de succès. Heureusement que par après, le premier rein qu'il préleva sur un cadavre humain fonctionna correctement sans quoi, il aurait pu conclure que la méthode n'était pas extrapolable à l'homme. Les échecs répétés des cas suivants ne découragèrent cependant pas Belzer. Grâce à un raisonnement logique cette fois, il modifia le traitement du donneur et sa persévérance fut enfin récompensée ; il obtint des organes de bonne qualité.

Duhamel écrit dans " Le notaire du Havre " que " la vérité c'est l'accident de l'erreur "¹³. Cet aphorisme s'applique parfaitement à l'élaboration de la solution de Collins. Nous avons tous répété avec conviction à cette époque qu'un liquide de conservation doit avoir une composition électrolytique intracellulaire. Belzer démontra qu'il n'en était rien et que l'osmolalité était le facteur essentiel. Signalons en passant qu'il tâtonna ensuite pendant près de 20 ans en se basant sur les connaissances acquises dans le domaine de l'ischémie avant de pouvoir établir la recette de la solution U.W. (*University of Wisconsin*) qui permet de conserver plusieurs heures tous les organes abdominaux¹⁴.

Enfin, il est probable que sans la demande pressante de Kostakis, le flacon de ciclosporine aurait continué à traîner dans le laboratoire de Cambridge. Toutefois, lorsque les premiers résultats expérimentaux furent confirmés, c'est la ténacité des cliniciens qui permit de réaliser les premiers essais cliniques et de persuader les dirigeants de la firme de reprendre la production du médicament. Il ne faudrait donc pas conclure que la recherche médicale est une loterie et que chaque découverte importante est le fait du hasard. Le chercheur ne doit pas compter sur la chance mais il doit être capable de la saisir. Comme le disait Louis Pasteur : " Dans les champs de l'observation, le hasard ne favorise que les esprits préparés ".

BIBLIOGRAPHIE

1. Carrel A : The preservation of tissues and its application in surgery. JAMA 1912 ; 59 : 523-7
2. Carrel A : On the permanent life of tissues outside of the organism. J Exp Med 1912 ; 15 : 516-28
3. Belzer FO, Ashby BS, Dunphy JE : 24-hour and 72-hour preservation of canine kidneys. Lancet 1967 ; 2 : 536-9

4. Belzer FO : Organ preservation, a personal perspective. In : Teresaki P, ed. History of transplantation - thirty five recollections. Los Angeles, California, UCLA tissue typing laboratory 1991 : 597-611
5. Collins GM, Bravo-Shugarman M, Terasaki PI : Kidney preservation for transportation. Initial perfusion and 30 hours' ice storage. Lancet 1969 ; 6 : 1219-22
6. Vereerstraeten P : Actualisation des résultats de la transplantation rénale à l'Université Libre de Bruxelles. Rev Med Brux 2002 ; 23 : 15-25
7. Starzl TE : Memoirs of a transplant surgeon. The puzzle people. Pittsburgh, Pa, University of Pittsburgh Press, 2003
8. Borel JF, Feurer C, Gubler HU, Stähelin H : Biological effects of cyclosporine A : a new antilymphocytic agent. Agents Actions 1976 ; 4 : 468-75
9. Calne RY : Recollections from the laboratory to the clinic. In : Teresaki P, ed. History of transplantation - thirty five recollections. Los Angeles, California, UCLA tissue typing laboratory 1991 ; 227-43
10. Calne RY, Rolles K, White DJ *et al.* : Cyclosporin A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs : 32 kidneys, 2 pancreases, and 2 livers. Lancet 1979 ; 2 : 1033-6
11. Starzl TE, Weil R 3rd, Iwatsuki S *et al.* : The use of cyclosporin A and prednisone in cadaver kidney transplantation. Surg Gynecol Obstet 1980 ; 151 : 17-26
12. Beveridge T : Cyclosporin A : an evaluation of clinical results. Transplant Proceed 1983 ; 15 : 433-7
13. Duhamel G : Le notaire du Havre. Paris, Mercure de France, 1932
14. Jamieson NV, Sundberg R, Lindell S *et al.* : Successful 24 to 30 jour preservation of the canine liver : a preliminary report. Transplant Proceed 1988 ; 20 (Suppl 1) : 945-7
15. Pasteur L : Discours d'inauguration de la Faculté des Sciences de Lille le 07.12.1854. In : Vallery-Radot R, La vie de Pasteur. Paris, Flammarion, 1941 : 83-4

Correspondance et tirés à part :

P. KINNAERT
Rue du Roteu 14
4960 Mont-Malmedy

Travail reçu le 4 juin 2010 ; accepté dans sa version définitive le 15 juillet 2010.