

Le traitement immunosuppresseur en transplantation rénale pédiatrique

Immunosuppressive agents in pediatric renal transplantation

K. Ismaili¹, D. Abramowicz², B. Adams¹, N. Godefroid¹, K. Lolin¹, T. Schurmans¹, M. Hall¹ et F. Janssen¹

¹Département de Néphrologie, Hémodialyse et Transplantation rénale, H.U.D.E.R.F.,

²Service de Néphrologie, Hôpital Erasme

RESUME

Les progrès de l'immunosuppression durant ces dix dernières années ont amélioré de manière significative la survie du patient et du greffon rénal. Les stratégies thérapeutiques utilisées évoluent de manière constante au cours du temps. Le but de l'immunosuppression reste la recherche du meilleur compromis entre l'efficacité à long terme et la diminution des effets secondaires. L'avenir de l'immunosuppression consistera probablement en deux stratégies parallèles : une meilleure utilisation de l'arsenal immunosuppresseur en visant l'épargne des corticoïdes et des anticalcineurines et le développement de stratégies plus novatrices d'induction de tolérance du greffon.

Rev Med Brux 2005 ; 26 : 505-12

ABSTRACT

Advances in immunosuppressive therapy over the past decade have led to dramatic improvements of patient and graft survival. The immunosuppression that is used is constantly evolving. The goal remains to find the best combination that will optimize long-term graft survival, while minimizing the adverse effects. It is likely that in the near future the results will even be improved further by the development of new medications with a better therapeutic index and the induction of transplant tolerance.

Rev Med Brux 2005 ; 26 : 505-12

Key words : renal transplantation, immunosuppression, pediatric

INTRODUCTION

La transplantation rénale chez l'enfant est considérée depuis plusieurs années comme le traitement de choix de l'insuffisance rénale terminale¹. Le succès de la transplantation rénale permet à l'enfant, par rapport à la dialyse, d'aspirer à une meilleure qualité de vie au niveau physique, social et psychologique. Néanmoins, la transplantation rénale chez l'enfant pose des problèmes médicaux et éthiques spécifiques à l'âge pédiatrique. L'enfant est en évolution constante et de ce fait tous les aspects techniques, métaboliques, immunologiques et psychosociaux doivent être individualisés pour chaque patient.

Bien qu'approximative, l'incidence de l'insuffisance rénale terminale en pédiatrie est de l'ordre de 1 à 3 par million d'enfants². Les causes les plus habituelles dépendent de l'âge. En bas âge, il s'agit

surtout des uropathies malformatives, des hypodysplasies rénales et de la néphropathie de reflux. Chez les enfants plus âgés, il s'agit surtout des glomérulonéphrites.

Du fait de la faible incidence de l'insuffisance rénale terminale en pédiatrie, la majeure partie des informations concernant l'utilisation et le développement des traitements immunosuppresseurs en transplantation rénale découlent d'études réalisées par les équipes de transplantation chez le patient adulte. Néanmoins, il existe des registres pédiatriques européens et nord américains de transplantation rénale qui ont pour but de collecter les données épidémiologiques et cliniques de ces enfants afin d'évaluer leur évolution à long terme².

Dès les premières expériences de transplantation chez l'animal, il était apparu que le rejet était un

obstacle majeur et qu'il dépendait du système immunitaire. Les premières stratégies thérapeutiques en transplantation humaine ont consisté à diminuer cette réponse immunitaire en utilisant des agents immunosuppresseurs. Ceci a permis d'obtenir d'excellents résultats en termes de diminution des épisodes de rejet aigu et d'amélioration de la survie du greffon et du patient³. Les stratégies thérapeutiques utilisées peuvent être différentes d'un centre de transplantation à l'autre et évoluent de manière constante au cours du temps. Récemment, la société nord-américaine de transplantation rénale pédiatrique (NAPRTCS) a revu l'évolution de l'utilisation des schémas d'immunosuppression de 1997 à 2003². La triple thérapie classique à base de prednisone, azathioprine (AZA) et cyclosporine (CsA) qui était utilisée chez 80-85 % des enfants entre 1987 et 1993, n'était plus utilisée que chez 9 % des patients en 2003. Ceci est dû au remplacement d'abord progressif puis soutenu de l'AZA par le mycophénolate mofétil (MMF). L'utilisation du MMF a augmenté de 20,3 % à 64 % entre 1996 et 2003. Les autres tendances sont l'utilisation plus fréquente du tacrolimus (Tac) aux dépens de la CsA, 67,1 % *versus* 20,7 %. Par contre, l'utilisation des corticoïdes est restée stable au cours du temps, de l'ordre de 94 %.

Il existe toute une série de facteurs qui influencent le choix d'un schéma immunosuppresseur. Depuis l'importante amélioration de la survie du greffon à court terme grâce à l'intensification du traitement immunosuppresseur, les équipes de transplantation rénale pédiatrique se donnent pour objectif d'améliorer la survie du greffon à long terme¹. Le but de l'immunosuppression reste la recherche du meilleur compromis entre l'efficacité et la diminution des effets

secondaires. De ce fait, la recherche de cette efficacité doit être contrebalancée par une surveillance accrue du patient à cause des risques infectieux et tumoraux ainsi que de maladies cardiovasculaires associées aux dyslipidémies, à l'hypertension artérielle et aux désordres glucidiques. Dans la suite de cet article, nous tenterons de présenter les médicaments immunosuppresseurs utilisés en greffe rénale pédiatrique en montrant leurs avantages et inconvénients (Tableau).

AGENTS UTILISES DANS LE TRAITEMENT D'INDUCTION

Le but du traitement d'induction est d'éviter l'activation des lymphocytes T au cours des premières semaines de la greffe, moment où l'incidence des épisodes de rejet est la plus élevée. L'inhibition des lymphocytes T peut être obtenue soit par la déplétion du pool de lymphocytes T en utilisant des anticorps mono- ou polyclonaux, ou par l'inhibition spécifique de l'action de l'interleukine 2 (IL-2). Le choix du traitement d'induction dépend du centre et des caractéristiques du patient. Les critères les plus importants dans le choix de l'agent thérapeutique restent l'efficacité et la toxicité. Nous avons assisté ces dernières années à une évolution régulière vers l'utilisation des antagonistes du récepteur à l'IL-2 (basiliximab et daclizumab) au détriment des immunoglobulines antilymphocytaires. Le dernier rapport de la NAPRTCS publié en 2004², a montré que parmi les enfants transplantés en 2003, 29,9 % ont reçu le basiliximab, 18,2 % le daclizumab, 12,3 % des immunoglobulines antilymphocytaires et 0 % le muronab-CD3 (OKT3). A noter que 39,6 % des enfants n'ont pas reçu de traitement d'induction.

Tableau : Les caractéristiques principales des agents immunosuppresseurs.		
Agent	Mécanismes d'action	Effets secondaires
ATG	Se lie à plusieurs antigènes de surface des lymphocytes T ; provoquent une déplétion des lymphocytes T circulants.	Syndrome de libération de cytokines ; leucopénie ; thrombopénie ; maladie sérique.
OKT3	Se lie à CD3 présent sur les lymphocytes T ; provoque une déplétion des lymphocytes T circulants.	Syndrome de libération de cytokines ; effet procoagulant ; apparition d'anticorps anti-OKT3.
Daclizumab	Se lie à la chaîne α du récepteur de l'IL-2 ; bloque l'action prolifératrice de l'IL-2.	Pas d'effets secondaires.
Basiliximab	Se lie à la chaîne α du récepteur de l'IL-2 ; bloque l'action prolifératrice de l'IL-2.	Choc anaphylactique (rare).
Cyclosporine (CsA)	Se lie à la cyclophiline ; inhibe la calcineurine ; inhibe la production d'IL-2.	Néphrotoxicité ; hypertension ; hypercholestérolémie ; hypertrichose ; hypertrophie gingivale.
Tacrolimus (Tac)	Se lie à la FKBP-12 ; inhibe la calcineurine ; inhibe la production d'IL-2.	Néphrotoxicité ; neurotoxicité ; hypertension ; diabète.
Azathioprine (AZA)	Inhibe la synthèse des purines et la prolifération des lymphocytes T.	Leucopénie ; anémie.
Mycophénolate mofétil (MMF)	Inhibe la synthèse des purines et la prolifération des lymphocytes T.	Diarrhée ; leucopénie ; anémie.
Sirolimus/ everolimus	Se lie à la FKBP-12 ; inhibe la réponse proliférative aux cytokines et aux facteurs de croissance.	Hyperlipidémie ; arthralgie ; pneumonies ; défaut de cicatrisation.

OKT3

Le muronab-CD3 (Orthoclone OKT3®) est un anticorps monoclonal entièrement murin dirigé contre l'antigène CD3 qui est présent à la surface des lymphocytes T humains. Le CD3 est associé au récepteur des lymphocytes T (TCR) et est indispensable à la transduction du signal. La liaison de l'OKT3 aux lymphocytes T entraîne une activation précoce de ceux-ci qui conduit à une libération de cytokines. Ce n'est que dans un deuxième temps que l'on assistera au blocage des fonctions de ces lymphocytes T et à leur déplétion du sang circulant. L'OKT3 a été utilisé depuis longtemps en traitement d'induction⁴ et dans les cas de rejet aigu⁵. Il semble néanmoins, que l'utilisation de l'OKT3 s'accompagne fréquemment de l'apparition d'anticorps anti-OKT3 qui diminuent l'efficacité thérapeutique du produit lors de sa réutilisation⁶. Il semble également que l'utilisation prolongée de l'OKT3 expose les patients à un risque accru de maladies lymphoprolifératives⁷. Le traitement par OKT3 peut s'accompagner de nombreux effets secondaires comme de la fièvre, des frissons, de l'hypotension, des nausées, de la diarrhée, et parfois un choc anaphylactique. Une prémédication par corticoïdes peut atténuer ces effets secondaires qui sont dus à la libération par les lymphocytes de cytokines comme le *tumor necrosis factor*, l'IL-2 et l'interféron gamma¹.

Des anticorps monoclonaux anti-CD3 humanisés pourraient diminuer ces effets secondaires grâce à leur faible affinité pour les récepteurs Fc⁸. Il existe actuellement plusieurs types d'anti-CD3 humanisés inclus dans des études cliniques de phase I chez l'adulte⁹. Ces nouveaux agents thérapeutiques sont le HuM291, le HuOKT3gamma1 et le anti-CD3 immunotoxin.

A cause de son profil d'effets secondaires défavorables, l'utilisation de l'OKT3 est devenue rarissime en transplantation rénale pédiatrique².

Les immunoglobulines antilymphocytaires

L'ATG-Fresenius® et la Thymoglobuline® sont des immunoglobulines antilymphocytaires obtenues à partir de sérum de lapins immunisés par l'injection de lymphocytes humains. Elles sont utilisées comme agent d'induction durant 3 à 10 jours pour produire une "profonde et durable" lymphopénie qui peut durer plus d'un an¹⁰. En dehors des complications liées à l'immunodéficiência induite, les effets secondaires les plus habituels des immunoglobulines antilymphocytaires sont une leucopénie et une thrombocytopénie transitoires, un syndrome de libération de cytokines, des réactions allergiques et occasionnellement une maladie sérique. Les résultats à long terme chez l'adulte ont montré une survie du greffon à 5 ans de 77 % sans augmentation du risque d'infection à CMV ni de survenue de maladie lymphoproliférative, et ce malgré une profonde lymphopénie qui a duré 2 ans¹¹. Bell *et al* ont obtenu une déplétion soutenue des lymphocytes T ainsi qu'une excellente survie du greffon à 1 an dans

une population pédiatrique¹². Chez l'enfant, l'utilisation des immunoglobulines antilymphocytaires semble être réservée au patient à haut risque de rejet (patient hyperimmunisé ou retransplanté)¹.

Les anticorps anti-récepteur de l'IL-2 (CD25)

Le basiliximab

Le basiliximab (Simulect®) est un anticorps monoclonal chimérique (homme-souris), dirigé contre la chaîne alpha du récepteur de l'IL-2 situé à la surface des lymphocytes T activés. En général, les adultes reçoivent deux doses de 20 mg. La première dose est administrée par voie intraveineuse 2 heures avant la greffe rénale et la deuxième dose est administrée au quatrième jour après l'opération. Ce schéma thérapeutique garantit des taux de basiliximab suffisants pour saturer la chaîne alpha du récepteur de l'IL-2 des lymphocytes circulants pendant 30 à 45 jours. Plusieurs essais thérapeutiques chez l'adulte ont montré que l'utilisation du basiliximab s'accompagne d'une réduction relative des taux de rejet à 6 mois de 30 à 40 %, et cela quel que soit la combinaison d'immunosuppresseurs associés¹³.

Alors que le basiliximab est utilisé en thérapie d'induction dans environ 30 % des greffes rénales pédiatriques, l'expérience de son utilisation chez l'enfant reste limitée par le manque de résultats à long terme¹². Pour arriver à une exposition suffisante de basiliximab, comparable à celle obtenue chez l'adulte, les enfants de moins de 35 kg doivent recevoir 2 doses de 10 mg et ceux de plus de 35 kg 2 doses de 20 mg par voie intraveineuse, selon le même schéma que chez l'adulte¹⁴. En général, le basiliximab est bien toléré par les patients avec très peu d'effets secondaires¹⁵. Cependant, des cas rarissimes mais graves de choc anaphylactique ont été décrits lors de la réutilisation du basiliximab chez des patients sensibilisés¹⁶.

Récemment, des auteurs américains ont comparé le devenir à 1 an de deux groupes d'enfants transplantés rénaux traités par un schéma MMF, anticalcineurine et prednisone, le premier groupe ayant reçu une induction par basiliximab et le deuxième groupe n'ayant pas reçu d'induction¹⁷. Les résultats à court terme étaient similaires en termes de fréquence de rejet aigu et de survie du greffon. Ceci relance le débat sur l'utilité d'un traitement d'induction chez le patient non sensibilisé.

Le daclizumab

Le daclizumab (Zenapax®) est un anticorps monoclonal humanisé dirigé, comme le basiliximab, contre la chaîne alpha du récepteur de l'IL-2. Le dosage habituel est de 1 mg/kg/dose toutes les deux semaines pendant deux mois (5 doses). Le récepteur de l'IL-2 est alors bloqué pendant plus de 3 mois. L'efficacité du daclizumab par rapport à un placebo a été prouvée par plusieurs études chez l'adulte^{18,19} et par une étude pédiatrique²⁰. Le daclizumab a une efficacité comparable

à celle du basiliximab²¹ et n'a pas d'effet secondaire répertorié¹⁹.

Un des avantages du traitement d'induction par daclizumab a été de diminuer les doses nécessaires des autres médicaments immunosuppresseurs et d'en limiter les effets secondaires. C'est ainsi que Ingle *et al* ont pu viser des taux sériques de CsA de moitié plus bas que ceux utilisés d'habitude, sans aucun préjudice sur la survie du greffon²². Une autre étude multicentrique a pu utiliser la combinaison daclizumab-MMF-Tac sans corticoïdes²³. Ce schéma a été qualifié d'efficace et sans risque accru de rejet aigu. Une étude pédiatrique similaire a été menée à Stanford²⁴. Elle sera détaillée plus loin.

Un des inconvénients de l'utilisation du daclizumab par rapport au basiliximab, est la longueur et la lourdeur de son schéma thérapeutique. Dans le but de simplifier son utilisation clinique, des équipes ont comparé l'utilisation d'un schéma simplifié d'induction à 2 doses de daclizumab (J0 et J14) au schéma classique à 5 injections²⁵. L'efficacité des deux schémas a été identique après un suivi de 1 an.

AGENTS UTILISES DANS LE TRAITEMENT D'ENTRETIEN

Les corticoïdes

Les corticoïdes ont des effets anti-inflammatoires bien connus en agissant prioritairement sur l'immunité cellulaire²⁶. Ils ont de multiples effets secondaires comme l'aspect cushingoïde, la susceptibilité aux infections, la mauvaise cicatrisation, le retard statural, l'ostéoporose, la nécrose aseptique osseuse, la cataracte, l'intolérance au glucose, la rétention hydrique, l'hypertension artérielle, la labilité émotionnelle, les troubles du comportement, l'insomnie, les ulcères gastriques, l'hyperlipidémie, la polyphagie, l'obésité et l'acné. L'utilisation des corticoïdes en transplantation rénale pédiatrique est généralisée². Néanmoins, leurs nombreux effets secondaires rendent cette utilisation délicate. L'impact sur l'aspect physique pourrait être à l'origine de la mauvaise observance au traitement de certains patients, surtout à l'adolescence¹. La majorité des centres utilisent de fortes doses initiales, de l'ordre de 250 à 300 mg/m² de méthylprednisolone, par voie intraveineuse. Un schéma de réduction progressive des doses est habituellement utilisé pour arriver à une dose de 2,5 mg/m²/jour de prednisone à 6 mois de greffe.

Un des soucis majeurs en transplantation pédiatrique est de permettre à l'enfant d'atteindre une taille adéquate à l'âge adulte²⁷. Dans ce but, certaines équipes ont essayé de diminuer les doses de corticoïdes chez les enfants transplantés rénaux. Broyer *et al* ont utilisé, dans des cas de transplantation rénale stable sans épisode de rejet aigu, un schéma de corticothérapie alternée "un jour sur deux". La croissance staturale des patients a été améliorée de manière significative sans effet négatif sur la survie du greffon²⁸. Néanmoins, cet effet bénéfique sur la

croissance semble limité aux 2 premières années, sans augmentation significative de la vitesse de croissance au cours des années ultérieures²⁹. D'autres équipes ont essayé d'arrêter progressivement l'administration de corticoïdes, de nouveau chez des patients à faible risque de rejet. Les premiers résultats ont été particulièrement décevants avec un taux élevé de perte du greffon³⁰. L'explication la plus plausible est le fait que ces essais thérapeutiques ont été effectués à l'époque où l'on n'utilisait pas encore la CsA en micro-émulsion (Néoral®) qui est beaucoup mieux absorbée que l'ancienne formule (Sandimmun®). Par ailleurs, la CsA était utilisée en combinaison avec l'AZA à des doses immunosuppressives insuffisantes (< 2 mg/kg). De nouveaux essais cliniques utilisant la CsA en association avec le MMF ont montré des résultats encourageants après un suivi de 46 ± 2,3 mois³¹. Aucun des enfants inclus dans cette étude n'a présenté de rejet aigu, tout en gardant une fonction rénale stable. La vitesse de croissance a été nettement améliorée avec un gain en taille de l'ordre de +1,47 ± 0,32 DS. Ces bons résultats seraient expliqués, en partie, par le pouvoir immunosuppresseur plus puissant du MMF par rapport à celui de l'AZA. D'autre part, l'exposition à l'acide mycophénolique, l'agent actif du MMF, serait meilleure après l'arrêt des corticoïdes par diminution de sa métabolisation hépatique par l'enzyme uridine diphosphate-glucuronosyltransferase³².

Ces dernières années, de plus en plus d'équipes développent des protocoles immunosuppresseurs sans corticoïdes chez l'adulte avec d'excellents résultats en termes de survie du greffon, d'amélioration du profil lipidique et de la tension artérielle^{23,33}. En pédiatrie, c'est l'équipe de l'Université de Stanford qui a la plus grande expérience en ce domaine²⁴. Les corticoïdes ont été remplacés par un traitement de longue durée (6 mois) par l'inhibiteur de la chaîne alpha du récepteur de l'IL-2, daclizumab, associé au Tac et au MMF. Les enfants traités selon ce protocole (n = 57) ont été suivis pendant une durée moyenne de 20 mois et comparés à un groupe témoin recevant des doses usuelles de corticoïdes. Le groupe "steroid-free" a présenté une incidence basse de rejets aigus de l'ordre de 8 % à 1 an, une meilleure fonction rénale, une meilleure croissance, un meilleur profil lipidique et moins d'hypertension artérielle. Par contre, ce groupe a présenté plus d'épisodes d'anémie et de leucopénie. Les auteurs expliquent cela par les fortes doses de MMF utilisées durant la première partie de l'étude.

Les inhibiteurs de la calcineurine

La cyclosporine

La CsA est un petit peptide cyclique de 11 acides aminés d'origine fongique (*Tolypocladium inflatum*), qui se lie à des protéines intracellulaires appelées cyclophilines. Ce complexe bloque la voie de la calcineurine-phosphatase, ce qui inhibe la production d'IL-2 et ainsi que l'activation des lymphocytes T²⁶. Seule la forme en micro-émulsion (Néoral®) est utilisée en Belgique. Cette forme est mieux absorbée et permet

une meilleure utilisation en clinique que l'ancienne forme (Sandimmun®)³⁴. Les doses pédiatriques habituelles sont de l'ordre de 6 mg/kg au J0 et de 250 mg/m²/jour en deux doses par après. Cette dose d'entretien diminue au cours du temps pour arriver après 1 an de greffe à des doses comprises entre 5,6 et 8 mg/kg².

La CsA a de nombreux effets secondaires³⁵ : néphrotoxicité, hépatotoxicité, hypertension artérielle, hirsutisme, hyperplasie gingivale, susceptibilité aux infections et risque accru de cancers.

Le suivi des taux thérapeutiques de la CsA en greffe rénale pédiatrique est fondamental, d'autant plus que son absorption et son métabolisme sont aléatoires chez l'enfant par rapport à l'adulte³⁶. Il existe plusieurs techniques de dosage de la CsA mais le dosage par HPLC reste le procédé de référence³⁷. Le niveau minimum de la cyclosporinémie (C0) recherché se situe entre 100 et 200 ng/ml après 3 mois de greffe, les taux en période précoce étant plus élevés¹. Le dosage C0 est réalisé habituellement le matin, 12 heures après la prise du médicament. A titre d'exemple, nous utilisons dans notre département les taux C0 suivants : première semaine, 250-300 ng/ml ; les trois premiers mois, 200-250 ng/ml ; après 3 mois, 100-200 ng/ml ; après 1 an, 80-100 ng/ml. Il semble acquis que le maintien de taux résiduels inférieurs à 100 ng/ml au cours des premiers 6 mois de greffe est associé avec un risque très élevé de rejet aigu³⁸.

Malheureusement, il existe une grande variabilité intra- et inter-patient des taux sanguins de CsA, et ce quel que soit le moment du dosage. Il est donc difficile d'apprécier l'exposition réelle du patient à la CsA. Le dosage de la CsA 2 heures après l'administration (C2), est utilisé comme alternative à la réalisation d'une aire sous la courbe (AUC) ou de manière plus spécifique, l'aire d'absorption sous la courbe (AUC₀₋₄)³⁹. L'utilisation de C2 pourrait être plus fiable que le C0 pour suivre et adapter les doses de CsA⁴⁰. Le maintien de taux de C2 > 1.500 ng/ml durant les premiers 3 mois est associé avec le taux le plus bas de rejet aigu³⁹. Comme le C2 correspond au pic d'absorption de la CsA, les valeurs avant et après C2 changent de manière marquée. Dès lors, il est important de réaliser le prélèvement de manière précise à 2 h ± 15 min après la prise du médicament¹.

Le tacrolimus

Le Tac (Prograf®), est un produit fongique (*Streptomyces tsukubaensis*) de type macrolide. Il se lie à la protéine FK-binding protein 12 (FKBP12) et inhibe, comme la CsA, la calcineurine-phosphatase. Ceci interfère avec la production des cytokines IL-2, IL-3, IL-4 et interféron gamma et inhibe la prolifération des lymphocytes T²⁶. Les effets secondaires du Tac sont comparables à ceux de la CsA mais avec une incidence plus faible d'hypertension artérielle, d'hirsutisme, d'hyperplasie gingivale, et d'hyperlipidémie⁴¹. Par contre, il provoque plus de diabète sucré, d'hypomagnésémie,

de diarrhée et de neurotoxicité³⁵.

Les doses habituelles utilisées en pédiatrie sont de l'ordre de 0,2 à 0,3 mg/kg/jour en 2 doses *per os*, à jeun³⁷. Ces doses sont ajustées en fonction des taux sanguins, ces taux étant eux-mêmes dépendants des différents centres et de la combinaison d'immunosuppresseurs utilisée¹. Dans notre département, nous utilisons les taux résiduels (12 heures après la prise) suivants : les 3 premiers mois, 10-15 ng/ml ; de 3 à 12 mois, 8-12 ng/ml ; après 12 mois, 5-8 ng/ml.

Les taux sanguins du Tac, au même titre que ceux de la CsA, doivent être suivis de manière rigoureuse, non seulement à cause de l'étroite fenêtre thérapeutique, mais également à cause des nombreuses interactions médicamenteuses et alimentaires. La majorité de ces interactions sont dues aux produits qui inhibent ou stimulent le système du cytochrome P450 3A4 (CYP3A4). Des agents comme la rifampicine, le phénobarbital, la phénytoïne et la carbamazépine sont des inducteurs du CYP3A4 et causent de ce fait une diminution des taux circulants de CsA et de Tac. Par contre, les macrolides (sauf l'azithromycine, Zitromax®), les antifongiques azolés (ketoconazol, fluconazol) et certains bloqueurs du canal calcique (diltiazem, verapamil, nifédipine), sont des inhibiteurs du CYP3A4 et peuvent causer une élévation importante des taux de CsA et de Tac. L'interaction alimentaire la plus connue est celle avec le pamplemousse. Le pamplemousse est un inhibiteur du CYP3A4, ce qui cause une élévation des taux de CsA et de Tac. Il agit également comme un inducteur de la P-glycoprotéine intestinale, ce qui augmente la réabsorption digestive de la CsA et du Tac⁴².

Quel serait l'inhibiteur de la calcineurine de choix ? La CsA ou le Tac ? Cette question est plus que jamais d'actualité dans le domaine de la transplantation rénale pédiatrique⁴³. Des études randomisées pédiatriques ont montré que le Tac est plus efficace que la CsA en combinaison avec l'AZA et les corticoïdes en termes de survie du greffon et d'incidence d'épisodes de rejet aigu⁴⁴. Cet avantage disparaît lorsque les inhibiteurs de la calcineurine sont utilisés en combinaison avec le MMF⁴⁵. Néanmoins, le niveau de fonction du greffon était meilleur après 2 ans dans le groupe traité par Tac. Les effets secondaires des 2 médicaments sont superposables mais le Tac a un avantage évident sur l'apparence physique, ce qui pourrait permettre de diminuer la mauvaise observance au traitement des adolescents⁴³. La tendance actuelle en pédiatrie est d'utiliser le Tac comme premier choix (67 % des greffes rénales) par rapport à la CsA (21 % des greffes rénales)².

Les agents anti-prolifératifs

L'azathioprine

L'AZA (Imuran®) est la pro-drogue de la 6-mercaptopurine qui inhibe la synthèse des purines et

de ce fait la division cellulaire. Les effets secondaires les plus habituels sont la myélosuppression (leucopénie, thrombocytopénie et anémie mégalo-blastique), la susceptibilité aux infections virales, l'hépatotoxicité, la cholestase, la pancréatite, l'alopécie et les néoplasies. Les doses usuelles sont de 3 mg/kg au J0 et de 1,5 à 2 mg/kg par la suite en une seule prise par jour. Le suivi de l'examen hématologique complet est fondamental.

Le mycophénolate mofétil

Le MMF (Cellcept®) est devenu récemment un agent immunosuppresseur primordial dans la greffe rénale pédiatrique en remplacement de l'AZA². Le MMF est rapidement métabolisé en sa forme active, l'acide mycophénolique. Il s'agit d'un agent inhibiteur de la synthèse des nucléotides qui dépendent de la guanosine monophosphate. Le résultat en est un blocage de la synthèse des purines des lymphocytes T et B²⁶.

Les doses habituellement prescrites sont de l'ordre de 1.200 mg/m²/jour en 2 doses. Les doses requises en association avec la CsA sont plus importantes qu'avec le Tac car la CsA diminue la recirculation entéro-hépatique du MMF. De même, il a été récemment démontré chez l'enfant que les taux C2 de la CsA sont plus faibles en présence de MMF⁴⁶.

Le MMF présente des effets secondaires surtout de nature hématologique et digestive. Le suivi de l'examen hématologique complet est important et en cas de neutropénie, de thrombocytopénie ou d'anémie, il faut diminuer ou arrêter le traitement. Les effets secondaires digestifs les plus habituels sont la diarrhée, les vomissements et l'anorexie.

Chez l'adulte, le MMF a prouvé son efficacité en diminuant l'incidence de rejet aigu de l'ordre de 50 %⁴⁷. En pédiatrie, une étude comparant le MMF à l'AZA en combinaison avec la CsA et les corticoïdes n'a pas trouvé de différence entre les 2 schémas⁴⁸. Cette impression a été récemment confirmée dans une étude randomisée qui a conclu que le MMF ne présentait aucun avantage par rapport à l'AZA tout en étant 15 fois plus cher⁴⁹. Il est cependant important de prescrire l'AZA à des doses adéquates de l'ordre de 2 mg/kg/jour. Le coût élevé du MMF pourrait néanmoins être acceptable s'il permettait de diminuer les doses des inhibiteurs de la calcineurine et de ce fait leur effet néphrotoxique sur le greffon⁵⁰.

L'intolérance digestive du MMF est souvent problématique et parfois difficile à gérer. Dans ce cas, il est habituel de fractionner les doses en 3 ou 4 fois par jour. Il est parfois nécessaire de diminuer la dose totale ou de remplacer le MMF par l'AZA ou le sirolimus²⁴. C'est la raison pour laquelle des essais cliniques utilisant une forme de mycophénolate à libération lente, (Mycophenolate enteric coated, Myfortic®), ont été menés. Les résultats ont été décevants sans aucun bénéfice sur les troubles digestifs⁵¹.

Un autre problème rendant le monitoring du traitement par MMF aléatoire chez l'enfant, est que le suivi des taux sanguins résiduels C0 n'aurait pas d'impact sur la survenue de rejet aigu ni sur la survie du greffon⁵². Les taux obtenus 75 minutes après l'administration du médicament auraient une meilleure corrélation avec l'exposition du patient au MMF (aire sous la courbe)⁵², mais leur utilité en clinique reste à démontrer.

Le sirolimus

Le sirolimus (Rapamune®) est un macrolide produit par le *Streptomyces hygroscopicus*. Il se lie à la protéine FKBP12 et inhibe la voie de la *molecular-target-of-rapamycin* (mTOR) qui est nécessaire à la réponse cellulaire des lymphocytes à l'IL-2, ainsi que d'un grand nombre de types cellulaires à leurs facteurs de croissance respectifs. Contrairement aux inhibiteurs de la calcineurine, le sirolimus n'a pas de toxicité rénale directe. Toutefois, il inhibe la prolifération des cellules tubulaires rénales, et peut ainsi prolonger la durée du retard de la fonction du greffon après la transplantation. En outre, et de façon inattendue, il a été observé que le sirolimus augmentait la toxicité rénale de la CsA sans doute en inhibant son efflux des cellules tubulaires rénales⁵³. En conséquence, l'utilisation simultanée de CsA et de sirolimus est actuellement déconseillée. Cette interaction néphrotoxique semble être moins marquée avec le tacrolimus⁵⁴. Enfin, le sirolimus peut entraîner l'apparition d'une protéinurie glomérulaire néphrotique, dont les conséquences potentiellement délétères à long terme sont encore mal précisées⁵⁵. Les autres effets secondaires consistent en hyperlipidémie, arthralgie, pneumopathie, défaut de cicatrisation et incidence accrue de lymphocèles, de telle sorte que l'utilisation du sirolimus en post-greffe immédiate doit se faire avec prudence.

Enfin, le sirolimus, en inhibant la prolifération des cellules, entre autres, tumorales, pourrait dans une certaine mesure prévenir la survenue des néoplasies. Cette stratégie est actuellement en cours d'investigation⁵⁶.

En pédiatrie, le sirolimus n'est utilisé qu'en deuxième ligne, surtout dans les cas de toxicité aux inhibiteurs de la calcineurine. Dans une étude récente, le sirolimus a permis de réduire les besoins de Tac de 50 % tout en améliorant le taux de créatinine sérique⁵⁷.

Les doses de sirolimus requises en transplantation pédiatrique ne sont pas établies avec précision, d'autant plus que sa demi-vie semble plus courte chez l'enfant que chez l'adulte⁵⁸. Il est conseillé actuellement de viser des taux thérapeutiques résiduels C0 de l'ordre de 4 à 12 µg/l⁵⁹.

TRAITEMENT DU REJET AIGU

L'incidence du rejet aigu a diminué de manière importante au cours de ces dix dernières années. Entre les années 1987 et 1999, le risque de présenter un

rejet aigu au cours de la première année de greffe était de 54 % des cas (donneur vivant) et de 69 % (rein de cadavre). Ce risque est actuellement de 25 % (donneur vivant) et 29 % (rein de cadavre)². La majorité de ces rejets aigus répondent partiellement ou complètement à un traitement adéquat avec une perte du greffon dans moins de 5 % des cas².

Le traitement habituel du rejet aigu est une corticothérapie. Les doses requises et la durée du traitement changent énormément d'une équipe à l'autre. Les doses habituelles sont de l'ordre de 20 à 25 mg/kg/jour de méthylprednisolone (maximum 1 g) durant 3 jours¹. Dans notre département, nous utilisons des doses de 100 mg/m²/jour de méthylprednisolone pendant 5 jours. Certaines équipes ont administré de plus faibles doses de prednisone *per os* (3 mg/kg/jour) avec des résultats comparables à ceux obtenus par une administration I.V.⁶⁰. En cas de rejet cortico-résistant, il est habituel d'utiliser soit l'OKT3 soit les immunoglobulines antilymphocytaires. Il n'y a pas de place actuellement pour les antagonistes du récepteur à l'IL-2 dans le traitement du rejet aigu⁶¹. Il est également recommandé d'adapter le traitement immunosuppresseur d'entretien en remplaçant l'AZA par le MMF et la CsA par le Tac¹. Dans tous les cas de rejet aigu, une enquête quant à l'observance de l'enfant au traitement reste fondamentale.

CONCLUSIONS

Les progrès de la prise en charge des enfants transplantés rénaux ont amélioré de manière significative la survie du greffon et du patient. Le but dans les prochaines années sera d'établir des schémas thérapeutiques efficaces avec le minimum d'effets secondaires, notamment, les infections, la néphrotoxicité, les néoplasies, la modification de l'aspect physique et la mauvaise croissance. Dans ce but, une multitude d'études sont en cours pour diminuer ou arrêter l'utilisation des corticoïdes et des inhibiteurs de la calcineurine^{62,63}. Parallèlement, l'on assiste au développement de stratégies plus novatrices avec de nouveaux médicaments comme le FTY20 (inhibiteur de la sphingosine-1-phosphate), le FK778 (inhibiteur de la synthèse des pyrimidines) et l'alemtuzumab (anticorps humanisé dirigé contre le CD52)⁶⁴. Dans le futur, une alternative à l'immunosuppression serait de programmer le système immunitaire de l'hôte pour qu'il tolère sélectivement le greffon. Cet objectif n'a pas encore été possible en transplantation d'organe chez l'homme. Néanmoins, deux axes de recherche sont en cours : le premier consiste à bloquer le signal de co-stimulation en utilisant le LEA29Y (inducteur d'un signal négatif via les récepteurs CD80 et CD86)⁶⁵ et le deuxième à obtenir un microchimérisme hématopoïétique par une stratégie de transplantation d'organe associée à une greffe de cellules souches du donneur.

BIBLIOGRAPHIE

1. Smith JM, Nemeth TL, McDonald RA : Current immunosuppressive agents in pediatric renal transplantation. *Pediatr Transplant* 2004 ; 8 : 445-53

2. North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study, 2004, Annual Report
3. Vereerstraeten P : Actualisation des résultats de la transplantation rénale à l'Université libre de Bruxelles. *Rev Med Brux* 2002 ; 23 : 15-25
4. Abramowicz D, Norman DJ, Goldman M *et al* : OKT3 prophylaxis improves long-term renal graft survival in high-risk patients as compared to cyclosporine : combined results from the prospective, randomized Belgian and US studies. *Transplant Proc* 1995 ; 27 : 852-3
5. Gaber LW, Gaber AO, Vera SR, Braxton F, Hathaway D : Successful reversal of hyperacute renal allograft rejection with the anti-CD3 monoclonal OKT3. *Transplantation* 1992 ; 54 : 930-2
6. Mayes JT, Thistlethwaite JR, Stuart JK, Buckingham MR, Stuart FP : Reexposure to OKT3 in renal allograft recipients. *Transplantation* 1988 ; 45 : 349-53
7. Swinnen LJ, Fisher SG : OKT3 monoclonal antibodies induce interleukin-6 and interleukin-10 : a possible cause of lymphoproliferative disorders associated with transplantation. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1993 ; 2 : 670-8
8. Alegre ML, Tso JY, Sattar HA *et al* : An anti-murine CD3 monoclonal antibody with a low affinity for Fc gamma receptors suppresses transplantation responses while minimizing acute toxicity and immunogenicity. *J Immunol* 1995 ; 155 : 1544-55
9. Norman DJ, Vincenti F, de Mattos AM *et al* : Phase I trial of HuM291, a humanized anti-CD3 antibody, in patients receiving renal allografts from living donors. *Transplantation* 2000 ; 70 : 1707-12
10. Muller TF, Grebe SO, Neumann MC *et al* : Persistent long-term changes in lymphocyte subsets by polyclonal antibodies. *Transplantation* 1997 ; 64 : 1432-7
11. Hardinger KL, Schnitzler MA, Miller B *et al* : Five-year follow up of thymoglobulin *versus* ATGAM induction in adult renal transplantation. *Transplantation* 2004 ; 78 : 136-41
12. Bell L, Girardin C, Sharma A, Goodyer P, Mazer B : Lymphocyte subsets during and after rabbit anti-thymocyte globulin induction in pediatric renal transplantation : sustained T cell depletion. *Transplant Proc* 1997 ; 29 : 6S-9S
13. Nashan B, Moore R, Amlot PL, Schmidt AG, Abeywickrama K, Souliou JP : Randomised trial of basiliximab *versus* placebo for control of acute cellular rejection in renal allograft recipients. CHIB 201 International Study Group. *Lancet* 1997 ; 350 : 1193-8
14. Kovarik JM, Offner J, Broyer M *et al* : A rational dosing algorithm for basiliximab (Simulect) in pediatric transplantation based on pharmacokinetic-dynamic evaluations. *Transplantation* 2002 ; 74 : 966-71
15. Kahan BD, Rajagopalan PR, Hall M : United States Simulect Renal Study Group : reduction of the occurrence of acute cellular rejection among renal allograft recipients treated with basiliximab, a chimeric anti-interleukin-2-receptor monoclonal antibody. *Transplantation* 1999 ; 67 : 276-84
16. Baudouin V, Crusiaux A, Haddad E *et al* : Anaphylactic shock caused by immunoglobulin E sensitization after retreatment with the chimeric anti-interleukin-2 receptor monoclonal antibody basiliximab. *Transplantation* 2003 ; 76 : 459-63
17. Ojogho O, Sahney S, Cutler D *et al* : Mycophenolate mofetil in pediatric renal transplantation : non-induction vs induction with basiliximab. *Pediatr Transplant* 2005 ; 9 : 80-3
18. Nashan B, Light S, Hardie IR, Johnson JR : Reduction of acute renal allograft rejection by daclizumab. Daclizumab double therapy study group. *Transplantation* 1999 ; 67 : 110-5
19. Vincenti F, Kirkman R, Light S *et al* : Interleukin-2-receptor blockade with daclizumab to prevent rejection in renal transplantation. Daclizumab triple therapy study group. *N Engl J Med* 1998 ; 338 : 161-5
20. Ettenger R, Potter D, Pescovitz M : Humanized monoclonal anti-interleukin-2 receptor antibody daclizumab in pediatric renal transplantation. *Transplantation* 1998 ; 65 : S16
21. Benfield M, Tejani A, Ping-Leung H : Comparative study of the safety, efficacy, and practice patterns of monoclonal antibodies in pediatric renal transplantation. *Am J Transplant* 2002 ; 2 (Suppl 3) : S192
22. Ingle GR, Moudgil A, Vo A, Jordan SC : Cyclosporine-sparing effects of daclizumab in renal allograft recipients. *Am J Health Pharm* 2005 ; 62 : 391-6
23. Rostaing L, Cantarovich D, Mourad G *et al*, CARMEN Study Group : Corticosteroid-free immunosuppression with tacrolimus,

- mycophenolate mofetil, and daclizumab induction in renal transplantation. *Transplantation* 2005 ; 79 : 807-14
24. Sarwal MM, Vidhun JR, Alexander SR, Satterwhite T, Millan M, Salvatierra O : Continued superior outcomes with modification and lengthened follow-up of a steroid-avoidance pilot with extended daclizumab induction in pediatric renal transplantation. *Transplantation* 2003 ; 76 : 1331-9
 25. Soltero L, Carbajal H, Sarkissian N *et al* : A truncated-dose regimen of daclizumab for prevention of acute rejection in kidney transplant recipients : a single-center experience. *Transplantation* 2004 ; 78 : 1560-3
 26. Krensky AM, Clayberger C : Transplantation immunity. *Clin Immunol* 1994 ; 41 : 819-39
 27. Janssen F, Van Damme-Lombaerts R, Van Dyck M *et al* : Impact of growth hormone treatment on a Belgian population of short children with renal allografts. *Pediatr Transplant* 1997 ; 1 : 190-6
 28. Broyer M, Guest G, Gagnadoux MF : Growth rate in children receiving alternate-day corticosteroid treatment after kidney transplantation. *J Pediatr* 1992 ; 120 : 721-5
 29. Qvist E, Marttinen E, Ronnholm K *et al* : Growth after renal transplantation in infancy or early childhood. *Pediatr Nephrol* 2002 ; 17 : 438-43
 30. Klaus G, Jeck N, Konrad M, Foster B, Soergel M : Risk of steroid withdrawal in pediatric renal transplant patients with suspected steroid toxicity. *Clin Nephrol* 2001 ; 56 : 37-42
 31. Höcker B, John U, Plank C *et al* : Successful withdrawal of steroids in pediatric renal transplant recipients receiving CsA and MMF : results after four years. *Transplantation* 2004 ; 78 : 228-34
 32. Cattaneo D, Perico N, Gaspari F, Gotti E, Remuzzi G : Glucocorticoids interfere with MMF bioavailability in kidney transplantation. *Kidney Int* 2002 ; 62 : 1060-7
 33. Cole E, Landsberg D, Russel D, Zaltzman J, Kiberd B, Caravaggio C : A pilot study of steroid-free immunosuppression in the prevention of acute rejection in renal allograft recipients. *Transplantation* 2001 ; 72 : 845-50
 34. Dunn CJ, Wagstaff AJ, Perry CM, Plosker GL, Goa KL : Cyclosporin : an updated review of the pharmacokinetic properties, clinical efficacy and tolerability of a microemulsion-based formulation (Neoral) in organ transplantation. *Drugs* 2001 ; 61 : 1957-2016
 35. Halloran FP : Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med* 2004 ; 351 : 2715-29
 36. Cooney GF, Habucky K, Hoppu K : Cyclosporin pharmacokinetics in pediatric transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 1997 ; 32 : 481-95
 37. Shaw LM, Holt DW, Keown P, Venkataramanan R, Yatscoff RW : Current opinions on therapeutic drug monitoring of immunosuppressive drugs. *Clin Ther* 1999 ; 21 : 1632-53
 38. Matas AJ, Gillingham KJ, Chavers BM : The importance of early cyclosporine levels in pediatric kidney transplantation. *Clin Transplant* 1996 ; 10 : 482-6
 39. Canadian Neoral Renal Transplantation Study Group : Absorption profiling of cyclosporine microemulsion (Neoral) during the first 2 weeks after renal transplantation. *Transplantation* 2001 ; 72 : 1024-32
 40. Barama AJ, Sepandj F, Gough J, McKenna R : Correlation between Neoral 2 hours post-dose levels and histologic findings on surveillance biopsies. *Transplant Proc* 2004 ; 36 (Suppl 2) : S465-7
 41. Ellis D, Shapiro R, Jordan ML : Comparison of FK-506 and cyclosporine regimens in pediatric renal transplantation. *Pediatr Nephrol* 1994 ; 8 : 193-200
 42. Soldner A, Christians U, Susanito M, Wachter VJ, Silverman JA, Benet LZ : Grapefruit juice activates P-glycoprotein-mediated drug transport. *Pharm Res* 1999 ; 16 : 478-85
 43. Kari JA, Trompeter S : What is the calcineurin inhibitor of choice for pediatric renal transplantation ? *Pediatr Transplant* 2004 ; 8 : 437-44
 44. Trompeter S, Filler G, Webb NJ : Randomized trial of tacrolimus *versus* cyclosporin microemulsion in renal transplantation. *Pediatr Nephrol* 2002 ; 17 : 141-9
 45. Neu AM, Ho PL, Fine RN, Furth SL, Fivush BA : Tacrolimus *vs* cyclosporine A as primary immunosuppression in pediatric renal transplantation : a NAPRTCS study. *Pediatr Transplant* 2003 ; 7 : 217-22
 46. Filler G : Drug interactions between mycophenolate and cyclosporine. *Pediatr Transplant* 2004 ; 8 : 201-4
 47. European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group : Placebo controlled study of mycophenolate mofetil combined with cyclosporin and corticosteroids for prevention of acute rejection. *Lancet* 1995 ; 345 : 1321-5
 48. Benfield MR, Symons JM, Bynon S : Mycophenolate mofetil in pediatric renal transplantation. *Pediatr Transplant* 1999 ; 3 : 33-7
 49. Remuzzi G, Lesti M, Gotti E *et al* : Mycophenolate mofetil *versus* azathioprine for prevention of acute rejection in renal transplantation (MYSS) : a randomised trial. *Lancet* 2004 ; 364 : 503-12
 50. Seikaly MG : Mycophenolate mofetil is it worth the cost ? The in favour opinion. *Pediatr Transplant* 1999 ; 3 : 79-82
 51. Granger DK : Enteric-coated mycophenolate sodium : results of two pivotal global multicenter trials. *Transplant Proc* 2001 ; 33 : 3241-4
 52. Pape L, Ehrich JHH, Offner G : Long-term follow-up of pediatric transplant recipients : mycophenolic acid trough levels are not a good indicator for long-term graft function. *Clin Transplant* 2004 ; 18 : 576-9
 53. MacDonald AS : A worldwide, phase III, randomized, controlled, safety and efficacy study of a sirolimus/cyclosporine regimen for prevention of acute rejection in recipients of primary mismatched allografts. *Transplantation* 2001 ; 71 : 271-80
 54. McAlister VC, Mahalati K, Peltekian KM, Fraser A, McDonald AS : A clinical pharmacokinetic study of tacrolimus and sirolimus combination immunosuppression comparing simultaneous to separated administration. *Ther Drug Monit* 2002 ; 24 : 346-50
 55. Butani L : Investigation of pediatric renal transplant recipients with heavy proteinuria after sirolimus rescue. *Transplantation* 2004 ; 78 : 1362-6
 56. Stallone G, Schena A, Infante B *et al* : Sirolimus for kaposi's sarcoma in renal-transplant recipients. *N Engl J Med* 2005 ; 352 : 1317-23
 57. Sindhri R, Webber S, Venkataramanan R *et al* : Sirolimus for rescue and primary immunosuppression in transplanted children receiving tacrolimus. *Transplantation* 2001 ; 72 : 851-5
 58. Shachter AD, Meyers KE, Spaneas LD *et al* : Short sirolimus half-life in pediatric renal transplant recipients on a calcineurin inhibitor-free protocol. *Pediatr Transplant* 2004 ; 8 : 171-7
 59. Oellerich M, Armstrong VW, Streit F, Weber L, Tönshoff B : Immunosuppressive drug monitoring of sirolimus and cyclosporine in pediatric patients. *Clin Biochem* 2004 ; 37 : 424-8
 60. Orta-Sibu N, Chantler C, Bewick M, Haycock G : Comparison of high-dose intravenous methylprednisolone with low-dose oral prednisone in acute renal allograft rejection in children. *BMJ* 1982 ; 285 : 258-60
 61. Swiatecka-Urban A : Anti-interleukin-2 receptor antibodies for the prevention of rejection in pediatric renal transplant patients : current status. *Paediatr Drugs* 2003 ; 5 : 699-716
 62. Abramowicz D, Manas D, Lao M *et al*, Cyclosporine Withdrawal Study Group : Cyclosporine Withdrawal from a mycophenolate mofetil-containing immunosuppressive regimen in stable kidney transplant recipients : a randomized, controlled study. *Transplantation* 2002 ; 74 : 1725-34
 63. Flechner SM, Kurian SM, Solez K *et al* : De novo kidney transplantation without use of calcineurin inhibitors preserves renal structure and function at two years. *Am J Transplant* 2004 ; 4 : 1776-85
 64. Bartosh SM, Knechtle SJ, Sollinger HW : Campath-1H use in pediatric renal transplantation. *Am J Transplant* 2005 ; 5 : 1569-73
 65. Vincenti F, Larsen C, Durrbach A *et al* : Costimulation blockade with Belatacept in renal transplantation. *N Engl J Med* 2005 ; 353 : 770-81

Correspondance et tirés à part :

K. ISMAILI
H.U.D.E.R.F.
Département de Néphrologie pédiatrique
Avenue J. J. Crocq 15
1020 Bruxelles

Travail reçu le 13 juillet 2005 ; accepté dans sa version définitive le 21 octobre 2005.