

MASTER 2 SANTÉ PUBLIQUE
« SPÉCIALITÉ MODÉLISATION EN PHARMACOLOGIE CLINIQUE ET EPIDÉMIOLOGIE »

Parcours Epidémiologie

**ASSOCIATION ENTRE LE TAUX DE VITAMINE D À LA GREFFE ET LE
RISQUE DE COMPLICATIONS CHEZ LES PATIENTS TRANSPLANTÉS
RÉNAUX : ANALYSE DE LA COHORTE OBSERVATIONNELLE DIVAT**

MARIE-CÉCILE FOURNIER

2012 - 2013

Structure d'accueil :

EA 4275 – SPHERE Biostatistique, pharmacoépidémiologie, et mesures subjectives en santé
ITUN (Institut de Transplantation Urologie Néphrologie), Inserm UMR 1064

Directeur du laboratoire :

Véronique Sébille – Professeur de biostatistique

Maîtres de stage :

Florence Gillaizeau – Doctorante en biostatistique

Yohann Foucher – MCU en biostatistique

GLOSSAIRE

25(OH)D	25-hydroxyvitamin D
ADA	American Diabetes Association
AUC	Area Under the Curve (aire sous la courbe)
BCV	Validation Croisée par Bootstrap
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
ddl	degrés de liberté
DIVAT	Données Informatisées et Validées en Transplantation
ENNS	Etude Nationale Nutrition Santé
FNR	False Negative Rate (taux de faux négatifs)
FPR	False Positive Rate (taux de faux positifs)
HLA	Human Leukocyte Antigen
HR	Hazard Ratio
IC	Intervalle de Confiance
IMC	Indice de Masse Corporelle
ITUN	Institut de Transplantation Urologie Néphrologie
LASSO	Least Absolute Shrinkage and Selection Operator
LRS	Likelihood Ratio Statistic (statistique du rapport des vraisemblances)
NODAT	New Onset Diabetes After Transplantation (diabète de novo ou post-transplantation)
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
pmh	par million d'habitants
ROC	Receiver Operator Characteristic
ROCt	courbe ROC dépendante du temps
UV	Ultraviolet
VP	Vraisemblance Partielle

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	3
1 OBJECTIFS	5
2 MATÉRIELS ET MÉTHODES	6
2.1 Données.....	6
2.2 Définitions des temps d'évènements et des temps de censure.....	7
2.3 Analyses statistiques.....	8
3 RÉSULTATS	17
3.1 Descriptif.....	17
3.2 Recherche de facteurs de confusion.....	19
3.3 Analyses de survie.....	20
3.4 Score pronostique du risque de NODAT.....	22
4 DISCUSSION ET CONCLUSION	25
APPENDICES	32
A Modèles de survie pour les objectifs secondaires.....	33
B Représentation graphique de l'hypothèse de proportionnalité des risques.....	34
C Evolution de la valeur des coefficients du score pronostique du NODAT selon la valeur du paramètre de pénalisation λ	35

INTRODUCTION

L'insuffisance rénale chronique est une affection fréquente et sous-estimée en population générale, constituant un enjeu de santé publique majeur. Lorsque la destruction rénale devient totale (insuffisance rénale terminale), la mise en oeuvre d'un traitement de suppléance s'impose pour la survie du patient. En France, en 2011, 9 400 personnes ont commencé un traitement par dialyse (soit 144 par million d'habitants - pmh) et 335 ont reçu pour la première fois une transplantation pré-emptive (avant qu'une dialyse ne soit nécessaire) (soit 5 pmh). Concernant la prévalence, en 2011, on dénombrait 70 700 personnes en insuffisance rénale terminale (prévalence brute globale : 1 091 pmh) dont 39 600 (56%) dialysés et 31 100 (44%) porteurs d'un greffon rénal fonctionnel [1]. L'augmentation plus importante de la prévalence de la transplantation rénale (plus 4% depuis 2007) par rapport à celle de la dialyse (plus 2% depuis 2007) s'explique par l'amélioration de la survie des greffés et l'augmentation du nombre de greffes annuelles. La dialyse est très coûteuse et impacte considérablement la qualité de vie du patient par rapport à la transplantation rénale.

La vitamine D a été découverte il y a un siècle dans l'huile de foie de morue. Sa synthèse a été réalisée en 1952 (récompensée par un prix Nobel) puis son métabolisme et son mode d'action ont été déterminés en 1969. En 2010, une carte de son activité à l'échelle du génome a été publiée [2] et a identifié plus de 200 gènes régulés par la vitamine D et intervenant dans de nombreuses fonctions cellulaires. Sa production résulte en grande partie de l'exposition au soleil, et plus particulièrement aux rayons ultraviolets (UV) B, ces derniers étant quasiment absents en France pendant près de six mois de l'année. Cette vitamine peut aussi se trouver dans l'alimentation, cependant les aliments qui en contiennent naturellement sont rares (exemples : thon, hareng, sardines, saumon, jaune d'oeuf ou encore la margarine) [3].

Ainsi, le déficit en vitamine D est particulièrement fréquent chez les sujets insuffisants rénaux chroniques du fait d'une moindre exposition solaire, d'un régime alimentaire appauvri en vitamine D, d'une production cutanée moins efficace (dûe à une population âgée) ou de médicaments bloquant le métabolisme de la vitamine D comme les corticostéroïdes [4].

Alors que le rôle déterminant de la vitamine D sur la croissance et la santé osseuse est désormais bien connu, de nombreuses études sont actuellement en faveur d'un effet protecteur d'un taux normal de vitamine D dans de multiples pathologies en population générale (nombreux types de cancers, maladies auto-immunes comme la sclérose en plaque ou le diabète, maladies cardiovasculaires ou hypertension) [5, 6]. Elles suggèrent même que l'insuffisance en vitamine D est corrélée

avec la mortalité toutes causes confondues [7, 8].

En particulier, les études observationnelles menées dans la population générale ont rapporté une relation entre l'insuffisance en vitamine D et l'incidence du diabète de type 2. De plus, ces données ont été confortées par les modèles cellulaires et animaux qui ont montré que la vitamine D intervient directement dans la régulation du métabolisme glucidique.

Le diabète de novo (ou New Onset Diabetes After Transplantation - NODAT) est un diabète survenant après une transplantation. C'est une complication précoce et fréquente qui impacte à la fois la survie des patients et des greffons [9, 10] et dont la physiopathologie ressemble à celle du diabète de type 2. Néanmoins, à notre connaissance, aucune étude observationnelle ne s'est intéressée à la relation entre le taux de vitamine D à la greffe et la survenue du NODAT.

Les cancers cutanés épithéliaux représentent une autre complication très fréquente après une transplantation rénale [11] et nécessitent une surveillance dermatologique rigoureuse. Il existe deux types de tumeurs cutanées : les cancers cutanés épithéliaux (carcinomes) qui touchent les cellules de l'épiderme et les mélanomes qui affectent les cellules fabriquant les pigments mélaniques (mélanocytes). Les cancers cutanés épithéliaux sont les cancers de la peau les plus fréquents, représentant 90% d'entre eux. Soixante dix pourcent sont des baso cellulaires (couche basale de l'épiderme) et 20% des spino cellulaires (couche inférieure de l'épiderme) [12]. Les mélanomes sont beaucoup plus rares et ne sont pas comparables aux précédents : leur physiopathologie, la population touchée et leur évolution sont différentes. Les modèles animaux et cellulaires ont également montré que la vitamine D joue un rôle protecteur sur les kératinocytes (cellules constituant l'épiderme), bien que sa synthèse dépende en grande partie de l'exposition cutanée aux UV B, qui sont carcinogènes.

1 OBJECTIFS

Dans une première partie, nous étudierons les corrélations entre le niveau de vitamine D à la greffe et la survenue de différents évènements après une transplantation rénale.

L'objectif principal de cette étude est d'étudier la relation entre le taux de vitamine D au moment d'une première transplantation rénale et le risque de survenue d'un NODAT.

Les objectifs secondaires sont d'étudier le rôle de la vitamine D sur la survenue, d'une part des cancers tous types confondus (i.e solides ainsi que les cancers de la peau incluant les cancers cutanés épithéliaux et les mélanomes) et d'autre part plus spécifiquement des cancers cutanés épithéliaux. Enfin, nous étudierons l'association de la vitamine D avec l'échec de greffe (survie patient-greffon).

La confirmation statistique entre le risque de développer un cancer, en particulier un carcinome cutané épithélial et/ou un NODAT et/ou la survenue d'un échec de greffe et le statut vitaminique D des patients au moment de la transplantation constituerait une donnée fondamentale préliminaire à des études interventionnelles évaluant l'effet d'une supplémentation vitaminique, intervention thérapeutique simple et peu coûteuse. Ce serait alors une première indication pour l'introduction du dosage de la vitamine D en routine au moment de la greffe rénale.

Dans une seconde partie, nous proposerons un score pronostique du risque de NODAT à partir des données pré-greffe ainsi que celles récoltées au moment de la greffe. Ce score n'a jamais été réalisé avec une méthodologie statistique adéquate. L'intérêt de ce score serait de personnaliser la prise en charge des patients en fonction de leur risque de NODAT. Mieux identifier les receveurs à risque de NODAT permettrait de prévenir cette complication en adaptant les recommandations émises aux patients ou les traitements délivrés.

2 MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1 Données

2.1.1 Base de données DIVAT

Les données sont extraites de la cohorte DIVAT (Données Informatisées et Validées en Transplantation) [13] (www.divat.fr) coordonnée par l'Institut de Transplantation Urologie Néphrologie (ITUN) du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Nantes. La base de données informatique DIVAT a été initiée en 1990 et regroupe des informations issues des dossiers médicaux de patients ayant bénéficié de greffes rénales et/ou pancréatiques. Cette base a été créée pour dynamiser l'épidémiologie clinique en transplantation rénale. Plus de 300 items clinico-biologiques sont collectés à la greffe puis prospectivement au cours des visites de suivi. De plus, les sérums des patients transplantés sont conservés dans une biocollection qui a été mise en place en 2003 à Nantes. Les données sont anonymisées et les patients ont donné leur consentement écrit pour l'accès à leur dossier médical, le recueil et le traitement de leurs données. Un consentement spécifique est établi pour la biocollection. Une attention particulière concernant la qualité des données est mise en place à travers des réunions scientifiques et techniques ainsi que des audits annuels.

2.1.2 Echantillon de l'étude

Cette étude est observationnelle et monocentrique (Nantes). Les patients concernés ont été transplantés du rein pour la première fois entre le 1^{er} janvier 2000 et le 31 décembre 2011. Les patients inclus dans l'étude sont majeurs et ont eu un dosage de vitamine D, réalisé au CHU de Nantes, dans les trente jours précédents ou suivants la greffe. Ont été exclus les patients avec une greffe simultanée d'un autre organe, avec un antécédent de diabète ou de cancer. L'extraction des données a été effectuée le 20 septembre 2012. Les données manquantes ont été complétées a posteriori à partir du dossier informatique du CHU de Nantes (logiciel Clinicom).

2.1.3 Données démographiques et cliniques

Les données du receveur en pré greffe (âge, sexe, origine géographique, maladie initiale, indice de masse corporelle - IMC, durée de dialyse, antécédents médicaux), les données concernant la greffe (date de greffe, donneur vivant ou décédé, les incompatibilités donneur/receveur, traitements prescrits), ainsi que les données post-greffe (survenue de complications, retour en dialyse ou décès du patient) ont été recueillies. Tous les événements post-greffe sont recueillis avec la date correspon-

dante. Un patient est défini comme perdu de vue en cas d'absence de nouvelles pendant au moins deux années consécutives. La date de greffe détermine la saison : la période d'avril à septembre définit l'été et la période d'octobre à mars l'hiver.

2.1.4 Vitamine D

Pour chaque patient, nous avons colligé le dosage de la 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) réalisé par technique radio immunologique (Kit LIAISON TOTAL, laboratoire DiaSorin). Les sérums issus de la biocollection ont été stockés à -80°C . Les taux de vitamine D inférieurs à 4 ng/mL ne sont pas détectables par l'appareil de mesure (censure à gauche). D'après les recommandations de la société d'endocrinologie [14] et l'Etude Nationale Nutrition Santé (ENNS) [15], nous avons défini trois groupes de patients selon le taux de vitamine D à la greffe :

- ceux ayant un taux de vitamine D supérieur au seuil recommandé (taux de vitamine D ≥ 30 ng/mL, classe de référence),
- les insuffisants et/ou déficitaires (taux de vitamine D compris entre 10 et 30 ng/mL),
- et les carencés (taux de vitamine D < 10 ng/mL).

Ces seuils sont définis pour la population générale, par rapport aux effets osseux de la vitamine D et ne tiennent pas compte des effets extra-osseux. Il n'existe pas de recommandations spécifiques aux insuffisants rénaux. Pour une meilleure robustesse des résultats, nous n'avons pas choisi de réestimer ces seuils, approche qui augmenterait le risque de première espèce.

2.2 Définitions des temps d'évènements et des temps de censure

Le suivi pour chaque patient débute le jour de la greffe et se termine à la date des dernières nouvelles si aucune complication n'a eu lieu (censure à droite).

- Pour l'étude du NODAT, le temps étudié est le délai entre la greffe et la première prescription de médicaments anti-diabétiques. Pour cette étude, les sujets décédés ou retournés en dialyse sans avoir développé de NODAT sont censurés à droite à la date correspondante.
- Les cancers cutanés épithéliaux regroupent les cancers baso et spino cellulaires. Le temps étudié est le délai entre la greffe et le premier carcinome cutané épithélial diagnostiqué. Les patients décédés ou retournés en dialyse et n'ayant pas développé un cancer cutané épithélial sont censurés à droite à la date correspondante.
- Les cancers toutes causes confondues incluent les cancers de la peau (carcinomes ou mélanomes) ainsi que les cancers solides. Le temps étudié est le délai entre la greffe et le premier diagnostic de cancer. Les patients décédés ou retournés en dialyse et n'ayant pas eu de cancer sont censurés à droite à la date correspondante.
- Concernant l'échec de greffe, le temps étudié est le délai entre l'implantation du greffon et le premier des deux échecs possibles de la greffe : la perte de fonction du greffon nécessitant le retour en dialyse, ou le décès du patient avec son greffon fonctionnel.

2.3 Analyses statistiques

2.3.1 Descriptif

Les caractéristiques de l'échantillon sont exprimées sous la forme moyenne $\pm$ écart-type pour les variables quantitatives et nous décrivons les effectifs et les pourcentages des modalités pour les variables qualitatives. Afin de mettre en évidence la présence éventuelle de biais de sélection, nous avons comparé notre échantillon d'analyse aux patients répondants aux critères d'inclusion mais n'ayant pas été dosés en vitamine D. Ensuite, dans le but d'identifier des facteurs de confusion potentiels, nous avons étudié la liaison entre les variables explicatives dont nous disposons et le niveau de vitamine D à la greffe. Dans ces analyses, nous avons utilisé le test de Student et une analyse de la variance pour les variables quantitatives, et le test du chi 2, avec correction de Yates si nécessaire ou, le cas échéant, le test de Fisher exact pour les variables catégorielles. Un risque de première espèce inférieur à 5% était considéré comme significatif.

2.3.2 Analyses de survie

L'analyse de survie permet d'expliquer le rôle de certains facteurs sur le délai de survenue d'un évènement. La particularité des données de survie est qu'elles sont le plus souvent incomplètes à cause du phénomène de censure. La plus courante est la censure à droite.

Estimateur de Kaplan-Meier et test du log-rank

La probabilité de survie d'un évènement au temps t correspond à la probabilité que cet évènement se produise au-delà du temps t : $S(t) = Pr(T > t)$ où T est la variable aléatoire correspondant au temps d'apparition de l'évènement. Cette probabilité peut être estimée à partir de l'estimateur non-paramétrique de Kaplan Meier [16]. Soient respectivement T_j et C_j les temps d'apparition de l'évènement et de censure à droite, pour l'individu j ($j = 1, \dots, N$), N représente le nombre de sujets inclus dans l'étude. Si $C_j \geq T_j$, alors T_j est observé ($\delta_j = 1$). Si $C_j < T_j$, alors T_j n'est pas observé ($\delta_j = 0$). Posons Y_j le temps de la dernière information pour l'individu j : $Y_j = \min(T_j, C_j)$, T_n les temps uniques des évènements, et $\mathbb{1}(a) = 1$ si a est vraie, 0 sinon. Alors l'estimateur de Kaplan-Meier s'écrit :

$$\hat{S}_{KM}(t) = \prod_{s \in T_n, s \leq t} \left\{ 1 - \frac{\sum_j \mathbb{1}(y_j = s) \delta_j}{\sum_j \mathbb{1}(y_j \geq s)} \right\} \quad (2.1)$$

Toute l'information disponible, y compris les données censurées, est utilisée ici. On peut également représenter la fonction d'incidence cumulée d'un évènement au temps t qui correspond à la probabilité que cet évènement se produise avant ou au temps t (soit $1 - S(t)$). Le test du log-rank permet de comparer les courbes de survie entre plusieurs groupes.

Modèle à risques proportionnels de Cox

Définition

Le modèle à risques proportionnels proposé par Cox [17] est le modèle le plus souvent rencontré en analyse de survie dans le domaine médical. Lorsqu'il n'est pas possible de contrôler a priori la constitution des groupes (comme c'est le cas dans les études de cohorte), il est nécessaire de contrôler a posteriori ces facteurs de confusion lors de l'analyse des données, en les forçant dans le modèle. Le modèle à risques proportionnels de Cox multivarié permet de prendre en compte simultanément l'effet de plusieurs covariables pour expliquer la survenue d'un événement. Ce modèle va nous permettre d'étudier le lien entre la vitamine D et la survenue des événements en ajustant sur les facteurs de confusion potentiels. Soient X le vecteur des P covariables avec $X = (X_1, \dots, X_p)$ et $x_j = (x_{j1}, \dots, x_{jp})$ l'observation associée pour l'individu j . La fonction de risque instantané de connaître l'évènement au temps t , sachant X est :

$$h(t|X) = h_0(t) \exp(\eta) \quad (2.2)$$

avec $h_0(t)$ la fonction de risque de base et η la combinaison linéaire des covariables $\eta = \beta X$ avec $\beta = (\beta_1, \dots, \beta_p)$ le vecteur des coefficients de régression associés à X . Ainsi, pour le sujet j :

$$\eta_j = \sum_{i=1}^p \beta_i x_{ji} = \beta_1 x_{j1} + \dots + \beta_p x_{jp} \quad (2.3)$$

La fonction de risque de base $h_0(t)$ correspond au risque de faire l'évènement lorsque toutes les variables explicatives sont nulles (dans la population de référence). Il s'agit d'un modèle semi-paramétrique car cette fonction n'est pas estimée. Les coefficients β_i sont obtenus en maximisant la vraisemblance partielle (VP) qui correspond au produit des probabilités conditionnelles d'observer chaque décès parmi les individus à risque au même moment :

$$VP = \prod_{j=1}^N \left[\frac{\exp(\beta x_j)}{\sum_{k \in R_j} \exp(\beta x_k)} \right]^{\delta_j} \quad (2.4)$$

avec R_j individus à risque au temps t_j .

Cette écriture de la VP suppose l'indépendance entre tous les individus ainsi que l'indépendance entre la censure et l'évènement. On en déduit l'intervalle de confiance (IC) bilatéral de niveau $(1 - \alpha)\%$ des estimateurs grâce au théorème central limite : $IC_{(1-\alpha)\%}[\beta_i] = \hat{\beta}_i \pm z_{\alpha/2} \sqrt{\widehat{Var}(\hat{\beta}_i)}$ où $z_{\alpha/2}$ est le quantile d'ordre $\alpha/2$ de la loi normale centrée réduite, et $\widehat{Var}(\hat{\beta}_i)$ est obtenu à partir de la matrice Hessienne.

Le rapport des risques (Hazard Ratio, HR) permet une interprétation simple de l'effet des variables explicatives. De manière générale, si le HR est supérieur à 1 alors la variable X est un facteur de risque. S'il est inférieur à 1, c'est un facteur protecteur. S'il est égal à 1, la variable X n'est pas un facteur influençant le temps d'évènement. Pour tester si la covariable X_i est liée significativement au

temps d'apparition de l'évènement, on teste : $\begin{cases} H_0 : \beta_i = 0 \text{ (HR}_{x_i} = 1) \\ H_1 : \beta_i \neq 0 \text{ (HR}_{x_i} \neq 1) \end{cases}$ avec :

- le test de Wald : $T = \frac{\hat{\beta}_i}{\sqrt{\text{Var}(\hat{\beta}_i)}} \sim N(0,1)$ sous H_0 .
- ou le test du rapport des vraisemblances $\chi^2_{LRS} = -2 \times (\log(VP_0) - \log(VP_1)) \sim \chi^2_{1ddl}$ sous H_0 , où VP_0 est la VP sans X_i et VP_1 celle du modèle avec X_i . Nous privilégierons ce test par rapport au précédent pour sa meilleure vitesse de convergence.

Pour tester plusieurs paramètres simultanément, nous utilisons le test du rapport des vraisemblances

avec : $\begin{cases} H_0 : \beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_p = 0 \\ H_1 : \text{au moins un des coefficients est différent de 0} \end{cases}$. Dans ce cas, le test du rapport des

vraisemblances s'écrit : $\chi^2_{LRS} = -2 \times (\log(VP_0) - \log(VP_1)) \sim \chi^2_{pddl}$ sous H_0 , avec VP_0 la VP sans $X_1, \dots, X_p$ et VP_1 celle du modèle complet.

Hypothèses du modèle

La validité du modèle repose sur l'hypothèse de proportionnalité des risques : les fonctions de risque $h(t)$ pour les différentes modalités d'une variable sont proportionnelles (le rapport des fonctions de risque est constant au cours du temps). Cette hypothèse peut être vérifiée de plusieurs manières : graphiquement, en traçant les courbes du logarithme de moins le logarithme de la fonction de survie¹ (si les risques sont proportionnels, les courbes doivent avoir un écart constant au cours du temps), ou avec le test des résidus de Schoenfeld [18]. Ces résidus sont calculés pour chaque covariable du modèle et pour chaque sujet ayant eu l'évènement. Si l'hypothèse de proportionnalité des risques est vérifiée pour une covariable, cela signifie que les résidus de Schoenfeld pour cette covariable ne sont pas liés au temps de survenue de l'évènement. L'approche graphique a deux limites majeures : son interprétation est subjective et elle ne permet d'étudier qu'une seule variable à la fois.

Le modèle fait également une hypothèse de log-linéarité pour les variables explicatives continues. Pour les variables quantitatives, le HR doit donc être constant pour une augmentation de a unités de la variable quelle que soit la valeur à l'origine. Cette hypothèse a été vérifiée en observant si les IC95% des HR estimés pour les classes de la variable (classes définies par les quartiles) contenaient le HR estimé pour le centre de la classe quand la variable était considérée continue. Nous avons également inspecté graphiquement l'hypothèse de linéarité des HR pour différentes classes de même amplitude de la variable. La première méthode ne rejetait jamais l'hypothèse nulle du fait de larges intervalles de confiance alors que la méthode graphique semblait plutôt la rejeter. Nous avons alors décidé de dichotomiser l'âge du receveur selon la pertinence clinique (seuil de 55 ans).

1. $\ln(-\ln(S(t|x_1 = a)) - \ln(-\ln(S(t|x_1 = b))) = \beta_1(a - b)$ indépendant de t

Adéquation du modèle

Pour étudier l'adéquation des modèles finaux, nous avons utilisé deux types de résidus : résidus de Schoenfeld pour la vérification globale de l'hypothèse de proportionnalité des risques et résidus du score standardisé pour la recherche d'observations influentes.

Stratégie d'analyse

Les courbes d'incidence cumulées selon le niveau de vitamine D en classes ont été tracées et le test du log rank a été utilisé pour comparer la survie entre ces groupes. Les analyses univariées ont été réalisées pour les paramètres cliniquement pertinents. Les facteurs de risques connus ont été forcés dans le modèle multivarié et les variables significatives au seuil de 20% en analyse univariée ont été introduites. Les variables cliniquement forcées sont :

- l'âge, le sexe, l'IMC, l'origine géographique du receveur ainsi que deux traitements (le tacrolimus et les corticostéroïdes) pour le NODAT. [9]
- l'âge, le sexe et l'origine géographique du receveur pour les carcinomes cutanés épithéliaux [19] et les cancers toutes causes confondues [11]
- l'âge, le sexe, l'IMC du receveur, les incompatibilités HLA (Human Leukocyte Antigen) entre le donneur et le receveur, les antécédents d'hypertension, de dyslipidémie, cardiovasculaires et le temps de dialyse pré greffe pour l'étude de la survie patient-greffe.

Les variables candidates au modèle multivarié ont été éliminées une à une par une méthode descendante d'après le résultat du test du rapport des vraisemblances. De plus, à chaque étape, nous avons vérifié que le retrait d'une covariable ne modifiait pas de plus de 20% le coefficient de notre variable d'intérêt (la vitamine D). Une p-value inférieure à 5% était considérée significative.

Nous avons finalement testé uniquement les interactions d'ordre 2 avec la vitamine D.

2.3.3 Construction d'un score pronostique du risque de NODAT

La méthodologie précédemment exposée permet de mettre en évidence ou non l'existence d'associations. Elle ne permet pas de conclure sur les qualités d'un marqueur à prédire la survenue d'un événement [20] : l'existence d'une forte association entre un marqueur et la survenue d'un événement ne suffit pas à considérer ce marqueur comme un marqueur pronostique, c'est à dire comme une caractéristique à partir de laquelle une décision clinique fiable peut être envisagée. La p-value démontre uniquement que la relation entre un facteur de risque et la survenue de l'évènement n'est pas le résultat de la fluctuation d'échantillonnage. Les HR et la p-value permettent d'étudier des corrélations alors que la courbe ROC (Receiver Operator Characteristic) dépendante du temps et son aire sous la courbe (AUC) permettent d'étudier les capacités pronostiques [21].

Nous présentons dans un premier temps la méthode de pénalisation de LASSO (Least Absolute Shrinkage and Selection Operator) qui permet de sélectionner les variables selon la vraisemblance pénalisée et donc sur l'information qu'apportent ces variables au modèle, au lieu de les sélectionner sur la p-value. Dans un second temps, nous expliquerons comment estimer les capacités pronostiques du score en définissant la courbe ROC dépendante du temps (notée ROCT) et en développant le calcul de l'estimation de son AUC.

La pénalisation de LASSO

Principe

L'approche LASSO [22, 23] permet de restreindre le nombre de paramètres dans un modèle en pénalisant la VP (équation 2.4) par la somme de la valeur absolue des coefficients de régression :

$$\hat{\beta} = \underset{\beta}{\operatorname{argmax}} \left\{ VP(\beta) - \lambda \sum_{i=1}^p |\beta_i| \right\} \quad (2.5)$$

où λ est le paramètre de pénalisation (positif ou nul).

Plus le paramètre de pénalisation λ augmente, plus le nombre de variables retenues dans le modèle est faible (les coefficients de régression sont nuls). Si λ est nul, la vraisemblance n'est pas pénalisée, et l'estimation des coefficients de régression est classique, par maximisation de la VP (équation 2.4).

Estimation du paramètre λ

Le paramètre de pénalisation λ est estimé par validation croisée [24] : l'échantillon est divisé en K groupes ($k = 1, \dots, K$). Soient $\hat{\beta}_{-k}(\lambda)$ l'estimation de β sans le $k^{\text{ième}}$ groupe, $l_{-k}(\hat{\beta}_{-k}(\lambda))$ la log-vraisemblance partielle correspondante, et $l(\hat{\beta}_{-k}(\lambda))$ la log-vraisemblance partielle calculée avec tous les patients en utilisant les paramètres précédemment estimés :

$$CV(\lambda) = \sum_{k=1}^K l(\hat{\beta}_{-k}(\lambda)) - l_{(-k)}(\hat{\beta}_{-k}(\lambda)) \quad (2.6)$$

$$\hat{\lambda} = \underset{\lambda}{\operatorname{argmax}} \{ CV(\lambda) \} \quad (2.7)$$

Suite à la sélection des variables et l'estimation des coefficients de régression, nous obtenons notre score η (équation 2.3) qui est notre marqueur pronostique continu défini sur $\mathbb{R}$.

Courbe ROC dépendante du temps - ROCT

Supposons que des valeurs importantes du score η soient plutôt en faveur de l'événement (NO-DAT). Soit τ le temps de pronostic, alors le patient est défini comme étant à haut risque de subir l'événement avant le temps τ si $\eta > c$, c étant le seuil recherché (si $\eta < c$, il est défini à bas risque de subir l'événement avant τ). Il existe deux catégories d'erreurs issues de la décision liée au score :

pronostiquer l'évènement à tort (les faux positifs) et pronostiquer l'absence d'évènement à tort (les faux négatifs).

Les courbes ROC constituent des méthodes reconnues et désormais maîtrisées dans le contexte diagnostique pour résumer l'exactitude d'un test diagnostique (test biologique par exemple). La courbe ROC représente la sensibilité du test en fonction de 1 - la spécificité pour toutes les valeurs possibles de celui-ci. Elle est monotone croissante sur $[0,1]$ et son AUC décrit les qualités du marqueur (plus l'AUC est élevée, plus les propriétés de discrimination du test sont bonnes). Dans notre contexte pronostique, la dépendance au temps et la présence de données censurées doivent être prises en compte. L'objectif est de savoir si la mesure du marqueur à un temps t_0 (à la greffe) permet de pronostiquer le statut du patient à un temps τ ($t_0 < \tau$). Pour cela, nous utiliserons les courbes ROCt définies par Heagerty et al. [25]. Le taux de faux négatifs (FNR) et le taux de faux positifs (FPR) pour un pronostic au temps τ sont définis respectivement par :

$$FNR_\tau(c) = P(\eta \leq c | T \leq \tau) \quad (2.8)$$

$$FPR_\tau(c) = P(\eta > c | T > \tau) \quad (2.9)$$

La courbe ROCt pour un pronostic au temps τ représente $1 - FNR_\tau(c)$ en fonction de $FPR_\tau(c)$. Ces probabilités (équations 2.8 et 2.9) peuvent être réécrites à l'aide du théorème de Bayes :

$$\begin{aligned} FNR_\tau(c) &= P(T \leq \tau | \eta \leq c) P(\eta \leq c) / P(T \leq \tau) \\ &= \{[1 - S(\tau | \eta \leq c)] P(\eta \leq c)\} / \{1 - S(\tau)\} \end{aligned} \quad (2.10)$$

$$\begin{aligned} FPR_\tau(c) &= P(T > \tau | \eta > c) P(\eta > c) / P(T > \tau) \\ &= S(\tau | \eta > c) P(\eta > c) / S(\tau) \end{aligned} \quad (2.11)$$

où $S(\tau)$ est la fonction de survie et $S(\tau | \eta > c)$ est la fonction de survie chez les patients définis à haut risque.

Estimation des capacités pronostiques du score sur l'échantillon initial

Une méthode d'estimation largement répandue de $S(t)$ est celle de Kaplan et Meier [16] (équation 2.1). Ainsi, nous obtenons les estimations de FNR et FPR suivantes :

$$\widehat{FNR}_\tau(c) = \{[1 - \hat{S}_{KM}(\tau | \hat{\eta} \leq c)] \hat{F}_\eta(c)\} / \{1 - \hat{S}_{KM}(\tau)\} \quad (2.12)$$

$$\widehat{FPR}_\tau(c) = \hat{S}_{KM}(\tau | \hat{\eta} > c) (1 - \hat{F}_\eta(c)) / \hat{S}_{KM}(\tau) \quad (2.13)$$

où $\hat{F}_\eta(c)$ est une estimation de la fonction de répartition de η , qui est donnée par $N^{-1} \sum_j \mathbb{1}(\hat{\eta}_j < c)$. Nous relevons deux problèmes avec ces estimations : elles ne garantissent pas une monotonie pour la courbe ROCt et elles supposent que le processus de censure ne dépend pas de η . Cette dernière hypothèse n'est pas valide si l'intensité du suivi dépend du pronostic initial.

Soit $S(c, \tau) = P(\eta > c, T > \tau)$, la distribution bivariee de η et T . Nous pouvons reecrire les equations 2.10 et 2.11 ainsi :

$$\begin{aligned}
FNR_\tau(c) &= \{P(\eta \leq c) - P(\eta \leq c)S(\tau|\eta \leq c)\} / \{1 - S(\tau)\} \\
&= \{\hat{F}(c) - P(\eta \leq c)P(T > \tau|\eta \leq c)\} / \{1 - S(\tau)\} \\
&= \{\hat{F}(c) - P(T > \tau, \eta \leq c)\} / \{1 - S(\tau)\} \\
&= \{\hat{F}(c) - [P(T > \tau) - P(T > \tau, \eta > c)]\} / \{1 - S(\tau)\} \\
&= \{\hat{F}(c) - S(\tau) + S(c, \tau)\} / \{1 - S(\tau)\}
\end{aligned} \tag{2.14}$$

$$\begin{aligned}
FPR_\tau(c) &= P(T > \tau|\eta > c)P(\eta > c) / S(\tau) \\
&= S(c, \tau) / S(\tau)
\end{aligned} \tag{2.15}$$

En utilisant l'estimateur de Akritas [26] pour $S(c, \tau)$, nous resolvons les problemes precedemment evoques :

$$\hat{S}(c, \tau) = N^{-1} \sum_{j=1}^N \hat{S}(\tau|\hat{\eta} = \hat{\eta}_j) \mathbb{1}(\hat{\eta}_j > c) \tag{2.16}$$

où $\hat{S}(\tau|\hat{\eta} = \hat{\eta}_j)$ est un estimateur de la fonction de survie conditionnelle, basée sur un noyau des plus proches voisins, dependant du parametre π . Soit K le noyau des plus proches voisins, le principe etant de choisir les patients eligibles, c'est a dire les patients tels que la valeur de leur marqueur soit proche de la valeur $\hat{\eta}_j$ d'interet : $K_\pi(\hat{\eta}_j, \hat{\eta}_l) = \mathbb{1}(-\pi < \hat{F}(\hat{\eta}_j) - \hat{F}(\hat{\eta}_l) < \pi)$. $2\pi \in [0; 1]$ represente le pourcentage d'individus de l'echantillon a inclure comme eligibles (exception faite aux limites de la distribution de η). A partir de cette definition, l'estimation de la survie conditionnelle s'ecrit comme un estimateur de Kaplan Meier (equation 2.1) pondere :

$$\hat{S}(\tau|\hat{\eta} = \hat{\eta}_j) = \prod_{s \in T_n, s \leq \tau} \left\{ 1 - \frac{\sum_l K_\pi(\hat{\eta}_j, \hat{\eta}_l) \mathbb{1}(y_l = s) \delta_l}{\sum_l K_\pi(\hat{\eta}_j, \hat{\eta}_l) \mathbb{1}(y_l \geq s)} \right\} \tag{2.17}$$

Ainsi, nous pouvons estimer les taux d'erreurs FNR et FPR :

$$\begin{aligned}
\widehat{FNR}_\tau(c) &= \{\hat{F}(c) - \hat{S}(-\infty, \tau) + \hat{S}(c, \tau)\} / \{1 - \hat{S}(-\infty, \tau)\} \\
\widehat{FPR}_\tau(c) &= \hat{S}(c, \tau) / \hat{S}(-\infty, \tau)
\end{aligned} \tag{2.18}$$

En utilisant ces taux pour evaluer le score, nous surestimons ses capacites pronostiques. En effet, evaluer le score sur l'echantillon qui nous a permis de le mettre au point entraine une surestimation de ses capacites pronostiques. Pour y remedier il existe differentes methodes. La demarche la plus frequente est de decouper l'echantillon avec deux tiers de l'echantillon pour construire la signature pronostique et un tiers pour la valider. Cependant, cette methodologie comporte plusieurs inconvenients [27] et tout particulierement, la diminution de puissance statistique. Or, nous sommes en presence de peu d'evenements ce qui signifie que la puissance statistique sur l'echantillon total est deja faible. Nous allons donc utiliser une methode de reechantillonnage afin de resoudre ce probleme de

surajustement.

Estimation des capacités pronostiques du score par algorithmes de rééchantillonnage (bootstrap)

Bootstrap Cross Validation

On tire au sort B ($b=1, \dots, B$) échantillons de bootstrap de taille N avec remise. Pour les B échantillons, le paramètre λ_b est calculé par validation croisée et l'estimation des coefficients $\widehat{\beta}_b$ est réalisée par maximisation de la vraisemblance pénalisée. Pour les B échantillons des patients non inclus dans les échantillons de bootstrap, les quantités $\widehat{FNR}_\tau^b(c)$ et $\widehat{FPR}_\tau^b(c)$ sont calculées. Ainsi, on obtient par Bootstrap Cross Validation (BCV) les estimations suivantes :

$$\widehat{FNR}_\tau^{BCV}(c) = B^{-1} \sum_{b=1}^B \widehat{FNR}_\tau^b(c) \quad (2.19)$$

$$\widehat{FPR}_\tau^{BCV}(c) = B^{-1} \sum_{b=1}^B \widehat{FPR}_\tau^b(c) \quad (2.20)$$

La courbe ROCt par bootstrap cross validation est définie par $1 - \widehat{FNR}_\tau^{BCV}(c)$ en fonction de $\widehat{FPR}_\tau^{BCV}(c)$ pour toutes les valeurs de c . Cependant, il a été montré que cette courbe peut-être associée à une sous-estimation des capacités pronostiques. En effet, si N est suffisamment grand ($N > 40$), la probabilité qu'un individu soit tiré au sort dans l'échantillon de bootstrap est : $1 - (1 - 1/N)^N \approx 0,632$. Cette proportion est composée d'individus pouvant être répliqués alors que la proportion $(1 - 1/N)^N \approx 0,368$ est composée d'individus indépendants entre eux [28].

Bootstrap 0.632

Afin de corriger ce biais, il faut tout d'abord définir l'estimateur apparent :

$$\overline{FNR}_\tau(c) = B^{-1} \sum_{b=1}^B \widehat{FNR}_\tau^{b+}(c) \quad (2.21)$$

$$\overline{FPR}_\tau(c) = B^{-1} \sum_{b=1}^B \widehat{FPR}_\tau^{b+}(c)$$

$\widehat{FNR}_\tau^{b+}(c)$ et $\widehat{FPR}_\tau^{b+}(c)$ sont obtenus avec le modèle de l'itération b mais avec tous les patients (inclus ou non inclus dans l'échantillon b). Ces estimateurs sont associés à une surestimation des capacités pronostiques.

Ainsi, l'estimateur par bootstrap 0.632 définit les taux d'erreurs par :

$$\widehat{FNR}_\tau^{0.632}(c) = 0.368 \overline{FNR}_\tau(c) + 0.632 \widehat{FNR}_\tau^{BCV}(c) \quad (2.22)$$

$$\widehat{FPR}_\tau^{0.632}(c) = 0.368 \overline{FPR}_\tau(c) + 0.632 \widehat{FPR}_\tau^{BCV}(c)$$

La courbe ROCt bootstrap 0.632 est définie par $1 - \widehat{FNR}_\tau^{0.632}(c)$ en fonction de $\widehat{FPR}_\tau^{0.632}(c)$ pour toutes les valeurs de c . Cependant, cette approche peut surestimer la capacité pronostique en présence d'un

fort sur-ajustement des données où les capacités apparentes de prédiction peuvent être proches de la perfection. C'est pourquoi Efron et Tibshirani [29] ont ensuite proposé l'estimateur 0.632+ comme estimateur moins biaisé, en situation diagnostique.

Bootstrap 0.632+

Cet estimateur a été adapté aux données censurées par Foucher et Danger [30]. Le bootstrap 0.632+ se définit tel que :

$$\widehat{FNR}_\tau^{0.632+}(c) = 1 - \psi(\widehat{r}_{FNR,\tau}(c))\overline{FNR}_\tau(c) + \psi(\widehat{r}_{FNR,\tau}(c))\widehat{FNR}_\tau^{BCV}(c) \quad (2.23)$$

$$\widehat{FPR}_\tau^{0.632+}(c) = 1 - \psi(\widehat{r}_{FPR,\tau}(c))\overline{FPR}_\tau(c) + \psi(\widehat{r}_{FPR,\tau}(c))\widehat{FPR}_\tau^{BCV}(c) \quad (2.24)$$

avec

- $\psi(x) = 0,632/(1 - 0,368x)$
- $\widehat{r}_{FNR,\tau}(c) = \left\{ \widehat{FNR}_\tau^{BCV}(c) - \overline{FNR}_\tau(c) \right\} / \left\{ \widehat{\gamma}_{FNR,\tau}(c) - \overline{FNR}_\tau(c) \right\}$
- $\widehat{r}_{FPR,\tau}(c) = \left\{ \widehat{FPR}_\tau^{BCV}(c) - \overline{FPR}_\tau(c) \right\} / \left\{ \widehat{\gamma}_{FPR,\tau}(c) - \overline{FPR}_\tau(c) \right\}$

$\widehat{r}$ sont les taux de surajustement et $\widehat{\gamma}$ est le taux de non-information associé aux taux de faux négatifs et de faux positifs. Il peut être estimé en utilisant toutes les données et en considérant l'indépendance entre $\widehat{\eta}$ et T : $\widehat{\gamma}_{FNR,\tau}(c) = 1 - \widehat{\gamma}_{FPR,\tau}(c)$

La courbe ROCt bootstrap 0.632+ est définie par $1 - \widehat{FNR}_\tau^{0.632+}(c)$ en fonction de $\widehat{FPR}_\tau^{0.632+}(c)$ pour toutes les valeurs de c.

Le paramètre de pénalisation λ est estimé par validation croisée lors de la première étape (pénalisation de LASSO) et restreint le nombre de variables présentes dans le score pronostique (ce paramètre est par la suite réestimé à chaque étape du bootstrap (λ_b) pour évaluer les capacités pronostiques du score). L'estimation de λ peut varier selon la constitution des groupes dans la validation croisée (équation 2.6) mais on s'attend à une faible variation de celle-ci afin de garantir une certaine indépendance entre la constitution des groupes de la validation croisée et les variables retenues dans le score. Cependant, on peut observer sur certaines données une instabilité de l'estimation de λ et donc du score selon la constitution des groupes de validation croisée. Dans ce cas, λ peut être fixé (et $\lambda_b = \lambda$). Le choix de λ peut se faire en étudiant les variations de l'AUC de ROCt et en faisant un compromis entre une augmentation de cette dernière et le nombre de variables retenues : pour des valeurs de l'AUC proches du maximum, on privilégiera un score avec un nombre de paramètres satisfaisant selon la pertinence clinique (ni trop faible car peu d'intérêt, ni trop élevé car non utilisable en pratique).

Les données ont été analysées avec le logiciel R [31] avec la librairie ROC632.

3 RÉSULTATS

3.1 Descriptif

Nous avons 1084 patients qui répondent à nos critères d'inclusion. Parmi eux, 198 ont bénéficié d'un dosage de vitamine D au moment de la transplantation et un dosage a posteriori a été réalisé chez 246 patients supplémentaires. Notre échantillon d'analyse est donc constitué de 444 patients. Le tableau I compare les patients dosés en vitamine D avec ceux qui n'ont pas eu ce dosage.

Tableau I : Comparaison des patients éligibles (patients majeurs transplantés du rein seul pour la première fois, à Nantes, entre 2000 et 2011, n'ayant pas d'antécédents de diabète ou de cancer) selon la présence d'un dosage de vitamine D à la greffe.

	Dosage de vitamine D		p-value
	Réalisé (n=444)	Non réalisé (n=640)	
Année de la greffe > 2006	272 (61,3)	186 (29,1)	0,0000
Durée de suivi après la transplantation (années)	4,1 ± 2,9	5,6 ± 3,5	0,0000
Age du receveur (années)	50,9 ± 13,7	50,9 ± 14,9	0,9275
Receveur masculin	269 (60,6)	421 (65,8)	0,0803
Indice de masse corporelle (kg/m ²)	24,2 ± 4,3	23,9 ± 4,3	0,2031
Antécédents d'hypertension	406 (91,4)	578 (90,3)	0,5276
Antécédents de dyslipidémie	172 (38,7)	232 (36,2)	0,4046
Antécédents d'hépatite C	11 (2,5)	19 (3,0)	0,6218
Maladie initiale de type récidivante	146 (32,9)	197 (30,8)	0,4644
Polykystose rénale	81 (18,2)	70 (10,9)	0,0006
Greffes préemptives	90 (20,3)	76 (11,9)	0,0002
Durée de dialyse avant transplantation (années)	3,0 ± 3,7	2,8 ± 2,7	0,3193
Donneur décédé	394 (88,7)	570 (89,1)	0,8673
Incompatibilités HLA A-B-DR > 4	91 (20,5)	136 (21,2)	0,7640
HLAB27 et/ou B42	41 (9,2)	59 (9,2)	0,9931
Traité par induction	428 (96,4)	603 (94,5)	0,1507
Traité par anticorps déplétants	120 (27,0)	135 (21,2)	0,0253
Traité par tacrolimus	331 (74,5)	418 (65,5)	0,0015
Traité par corticostéroïdes	278 (62,6)	479 (75,1)	0,0000
Transplanté en hiver (octobre à mars)	195 (43,9)	342 (53,4)	0,0021

Abréviation : HLA : Human Leucocytes Antigen.

Les données sont présentées sous la forme moyenne ± écart type ou nombre de patients (%) ; le test utilisé est soit le test de Student, soit le test du chi2 ou de Fisher exact, selon la nature de la variable.

Il nous informe de la présence de biais de sélection : dans l'échantillon retenu pour l'analyse, nous avons davantage de patients atteints d'une polykystose rénale par rapport à la prévalence observée dans l'échantillon de patients non inclus (18,2% versus 10,9%), le nombre de greffes préemptives est plus important (20,3% vs 11,9%). Le traitement utilisé pour l'induction est significativement différent selon les deux groupes : chez les patients inclus dans l'étude, 27,0% ont reçu des anticorps déplétants contre 21,2% dans le second groupe. Les patients inclus dans l'échantillon d'analyse semblent plus souvent traités par tacrolimus (74,5% en reçoivent vs 65,5% dans l'autre groupe) alors qu'ils prennent moins de corticostéroïdes (62,6% vs 75,1% respectivement). De plus, 43,9% des individus dosés en

vitamine D ont été transplantés en hiver alors qu'ils sont 53,4% dans le groupe des non dosés. Enfin, nous observons que l'année de greffe est significativement différente selon les deux groupes. Les patients dosés en vitamine D semblent avoir été transplantés plus récemment que les patients non dosés en vitamine D (ce qui pourrait aussi expliquer plusieurs différences significatives relevées ci-dessus). Il en découle que la durée de suivi moyenne est statistiquement significativement différente ($4,1 \pm 2,9$ pour le groupe des dosés en vitamine D vs $5,6 \pm 3,5$ chez les non dosés). Nous pouvons donc conclure que la population source sur laquelle nous allons travailler ne possède pas tout à fait les mêmes caractéristiques que la population cible. Il faudra donc être prudent lors de l'interprétation de nos résultats : les biais de sélection limitent la généralisation des résultats.

Tableau II : Description des patients transplantés du rein seul, pour la première fois, entre 2000 et 2011 à Nantes ayant un dosage de vitamine D à la greffe (n=444).

Variables	Caractéristiques
Durée de suivi après la transplantation (années)	$4,1 \pm 2,9$
Caractéristiques des patients à la greffe	
Age du receveur (années)	$50,9 \pm 13,7$
Receveur masculin	269 (60,6)
Receveur de type caucasien	396 (89,4)
Indice de masse corporelle (kg/m^2)	$24,3 \pm 4,4$
Antécédents d'hypertension	406 (91,4)
Antécédents de dyslipidémie	172 (38,7)
Antécédents d'hépatite C	11 (2,5)
Antécédents cardiovasculaires	159 (35,8)
Maladie initiale de type récidivante	146 (32,9)
Polykystose rénale	81 (18,2)
Greffe préemptive	90 (20,3)
Durée de dialyse avant transplantation (années)	$2,8 \pm 3,2$
Caractéristiques de la greffe	
Donneur décédé	394 (88,7)
Incompatibilités HLA A-B-DR > 4	91 (20,5)
HLA B27 et/ou B42	41 (9,2)
Traité par induction	428 (96,4)
Traité par anticorps déplétants	120 (27,0)
Traité par tacrolimus	331 (74,5)
Traité par corticostéroïdes	278 (62,6)
Caractéristiques relatives à la vitamin D	
Délai de mesure de la vitamine D depuis la greffe (jours)	$1,6 \pm 4,9$
Niveau de vitamine D (ng/ml)	
<10	88 (19,8)
[10 - 30[	264 (59,5)
≥ 30	92 (20,7)
Transplanté en hiver (octobre à mars)	195 (43,9)

Abréviation : HLA : Human Leucocytes Antigen.

Les données sont présentées sous la forme moyenne $\pm$ écart type ou nombre de patients (%), selon la nature de la variable.

D'après le tableau II, nous sommes en présence d'une majorité d'hommes (60,6%), d'origine caucasienne (89,4%), âgés en moyenne de 50,9 ans ($\pm 13,7$) et de corpulence normale (IMC moyen de $24,3 \pm 4,4$). Les greffes préemptives représentent 20,3%, alors que pour les autres greffés, la durée moyenne de dialyse avant la transplantation est de $2,8 \pm 3,2$ ans. Le nombre de perdus de vue est

de 7. Une seule donnée manquante, concernant l'origine géographique est à signaler.

Concernant le dosage de la vitamine D, son délai médian est de 0 jours, 7 dosages ont été réalisés avant la greffe (maximum : 10 jours précédents la greffe), 350 le jour de la greffe et 85 après la greffe (maximum : 30 jours). Nous observons que 79,3% des patients ont un taux inférieur au seuil recommandé (< 30 ng/mL) de vitamine D au moment de la greffe : 19,8% sont carencés, 59,5% sont en insuffisance ou déficitaires. Il faut noter que 19,1% des malades ont reçu un substitut vitaminique D en post-greffe dans un délai moyen de 3,0 ans ($\pm 2,9$).

3.2 Recherche de facteurs de confusion

Tableau III : Analyse descriptive des patients greffés du rein seul, pour la première fois, entre 2000 et 2011 à Nantes, selon leur taux de Vitamine D à la greffe (n = 444)

Variables	Taux de vitamine D à la greffe			p-value
	< 10 n = 88	[10 ; 30[n = 264	≥ 30 n=92	
Transplanté en hiver (octobre à mars)	55 (62,5)	108 (40,9)	32 (34,8)	0,0003
Traité par tacrolimus	52 (59,1)	210 (79,6)	69 (75,0)	0,0007
Durée de dialyse avant transplantation (années)	3,1 $\pm$ 4,0	2,2 $\pm$ 2,9	1,4 $\pm$ 1,9	0,0011
Antécédents cardiovasculaires	42 (47,7)	80 (30,3)	37 (40,2)	0,0078
Donneur décédé	85 (96,6)	225 (85,2)	84 (91,3)	0,0096
Polykystose rénale	8 (9,1)	49 (18,6)	24 (26,1)	0,0126
Traité par anticorps déplétants	31 (35,2)	59 (22,4)	30 (32,6)	0,0249
Traité par corticostéroïdes	63 (71,6)	164 (62,1)	51 (55,4)	0,0788
Antécédents de dyslipidémie	32 (36,4)	95 (36,0)	45 (48,9)	0,0794
Traité par induction	84 (95,4)	252 (95,4)	92 (100,0)	0,1143
Receveur masculin	46 (52,3)	162 (61,4)	61 (66,3)	0,1442
HLA B27 et/ou B42	12 (13,6)	24 (9,1)	5 (5,4)	0,1632
Antécédents d'hépatite C	3 (3,4)	8 (3,0)	0 (0,0)	0,2030
Incompatibilités HLA A-B-DR > 4	21 (23,9)	47 (17,8)	23 (25,0)	0,2308
Greffe préemptive	13 (14,8)	55 (20,8)	22 (23,9)	0,2933
Délai de mesure de la vitamine D depuis la greffe (jours)	2,2 $\pm$ 5,4	1,6 $\pm$ 4,6	1,4 $\pm$ 5,1	0,5228
Maladie initiale de type récidivante	28 (31,8)	83 (31,4)	35 (38,0)	0,4954
Indice de masse corporelle (kg/m ²)	24,0 $\pm$ 5,0	24,4 $\pm$ 4,2	24,0 $\pm$ 4,1	0,6996
Receveur de type caucasien	76 (87,4)	235 (89,0)	85 (92,4)	0,5241
Antécédents d'hypertension	83 (94,3)	240 (90,9)	83 (90,2)	0,5482
Age du receveur (années)	50,8 $\pm$ 13,0	51,3 $\pm$ 13,8	50,0 $\pm$ 14,1	0,7326

Abréviation : HLA : Human Leucocytes Antigen.

Les données sont présentées sous la forme moyenne $\pm$ écart type ou nombre de patients (%) ; le test utilisé est soit le test de Student, soit le test du chi² ou de Fisher exact, selon la nature de la variable.

D'après le tableau III , 7 facteurs sont répartis différemment selon le niveau de vitamine D des patients (p-value < 0,05) : les antécédents cardiovasculaires, la polykystose rénale, la durée de dialyse précédant la greffe (les personnes restées le plus longtemps en dialyse semblent les plus carencées), le statut vital du donneur , le type de traitement d'induction reçu, le traitement par tacrolimus (les personnes traitées par ce médicament semblent être moins souvent carencées en vitamine D) et enfin la saison de la transplantation (l'hiver, la synthèse en vitamine D est réduite du fait d'une moindre exposition solaire).

3.3 Analyses de survie

Au cours du suivi, 76 NODAT, 46 cancers tous types confondus chez des individus distincts (dont 25 cancers cutanés épithéliaux distincts) et 68 échecs de greffe sont survenus. Un même patient a pu développer plusieurs types de cancers : nous avons 11 carcinomes baso cellulaires seuls, 10 spino cellulaires seuls et 4 individus qui ont eu les deux. Deux individus ont développé à la fois un cancer solide et un carcinome cutané épithélial. Les études concernant les incidences de cancer ou le risque d'échec de greffe sont présentées en appendice A. Nous n'avons pas pu mettre en évidence de relations significatives avec le taux de vitamine D. Concernant l'étude de l'incidence du NODAT, la proportionnalité des risques selon les groupes de vitamine D n'était pas respectée (cf appendice B). Différentes solutions ont été envisagées : réaliser cette étude en introduisant la variable vitamine D comme variable dont l'effet varie au cours du temps, et étudier la survenue de l'évènement dans un délai plus court. Cependant, après discussions avec les cliniciens, les NODAT survenant la première année ne sont pas comparables à ceux qui se manifestent plus tardivement. En effet, le NODAT survient habituellement dans les premiers mois post-transplantation, une notification tardive peut être due à un NODAT diagnostiqué tardivement car non symptomatique (ne nécessitant pas la prise de médicaments). Nous avons donc pris la décision d'étudier la survenue d'un NODAT dans la première année post-transplantation exclusivement, en censurant les suivis supérieurs à un an. Sur cette période, 58 patients ont développé un NODAT. Le graphique présenté en appendice B montre que l'hypothèse de proportionnalité semble cette fois respectée.

L'incidence cumulée du NODAT à un an post-greffe est estimée à 13,4% [IC95% : 10,1% - 16,5%]. Les courbes d'incidences cumulées du NODAT selon le groupe de vitamine D au cours de la première année post-transplantation sont présentées en figure 1 . D'après ces courbes univariées, nous observons que les patients carencés en vitamine D ont une incidence du NODAT plus élevée. Les patients ayant un taux suffisant ont l'incidence cumulée la plus faible de ces trois groupes. Il semble que les différences observées entre les courbes ne soient pas dues au hasard ($p = 0,16$).

Les analyses univariées et le modèle final multivarié sont présentés dans le tableau IV . Les analyses univariées ont révélé 8 facteurs de risque potentiels (p -value $< 0,20$) : un niveau de vitamine D inférieur à 30 ng/mL, l'âge du receveur supérieur ou égal à 55 ans, un IMC plus élevé, l'absence d'antécédents d'hypertension, la présence d'antécédents cardiovasculaires, le traitement par tacrolimus ou corticostéroïdes ainsi que le traitement d'induction par anticorps bloquants. Le modèle de Cox multivarié a été déterminé sur 443 patients (la variable de l'origine géographique comporte une donnée manquante). Les variables retenues dans ce modèle sont le taux de vitamine D (variable d'in-

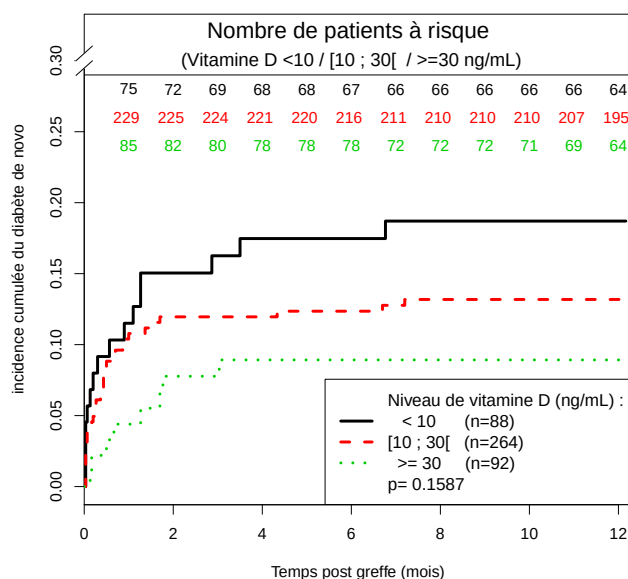


FIGURE 1 : Incidence cumulée du NODAT (New Onset Diabetes After Transplantation) sur la première année post-transplantation selon le taux de vitamine D à la greffe. Les courbes ont été comparées avec le test du log-rank ($p = 0,16$). Etude réalisée chez des patients transplantés du rein entre 2000 et 2011 à Nantes ($n=444$).

térêt), l'âge, le sexe, l'IMC et l'origine géographique du receveur ainsi que la présence ou non d'antécédents d'hypertension. Ainsi, nous observons, après ajustement, qu'un déficit en vitamine D à la greffe (10 à 30 ng/ml) semble augmenter le risque de développer un NODAT ($HR_{ajusté}$, versus $\geq 30 = 1,27$; $IC95\%$: 0,58 - 2,76 ; $p = 0,55$) et cette association semble s'intensifier lorsque le patient est carencé ($HR_{ajusté}$, versus $\geq 30 = 2,62$; $IC95\%$: 1,09 - 6,34, $p = 0,03$). Ainsi un patient carencé en vitamine D à la greffe a plus de 2 fois plus de risque de développer un NODAT dans la première année post-greffe qu'un patient avec un taux recommandé, toutes choses égales par ailleurs. Toutes les autres variables étant constantes, un patient greffé à plus de 55 ans a un risque de NODAT 2,4 fois plus élevé qu'un patient greffé à moins de 55 ans ($IC95\%$: [1,38 - 4,17]). Un patient avec un IMC supérieur de 5 kg/m² a un risque de développer un NODAT 1,8 fois plus élevé ($IC95\%$: 1,32 - 2,35)). Les personnes ayant des antécédents d'hypertension semblent être davantage protégées face au risque de NODAT par rapport aux personnes n'ayant pas ce type d'antécédents ($HR_{ajusté} = 0,31$; $IC95\%$: 0,15 - 0,67)). Enfin, les patients traités par tacrolimus sont plus à risque de développer un NODAT par rapport à ceux traités par cyclosporine (médicament alternatif au tacrolimus) ($HR_{ajusté} = 4,59$; $IC95\%$: [1,80 - 11,70]) et le traitement par corticostéroïdes apparaît aussi comme un facteur de risque ($HR_{ajusté} = 2,36$; $IC95\%$: [1,27 - 4,40]). Malgré une différence non significative, les hommes semblent plus à risque de développer un NODAT que les femmes, et les patients d'origine caucasienne ont tendance à être moins à risque de NODAT par rapport aux personnes d'une autre origine géographique.

Les interactions ont été testées entre le niveau de vitamine D et les covariables retenues mais aucune n'était statistiquement significative. L'hypothèse de proportionnalité des risques pour le mo-

dèle multivarié final n'était pas rejetée (résidus de Schoenfeld : $p = 0,59$).

Tableau IV : Analyses de survie avec des modèles à risques proportionnels de Cox pour étudier la relation entre la vitamine D à la greffe de rein et le temps d'apparition d'un diabète post-transplantation dans la première année de greffe. Etude réalisée chez des patients transplantés rénaux entre 2000 et 2011 à Nantes (n=444).

Variables	analyses univariées			modèle multivarié final		
	HR	IC(95%)	p-value	HR _a	IC _a (95%)	p-value
Taux de Vitamine D à la greffe						
[10;30[vs ≥ 30 ng/ml	1,54	[0,71 - 3,34]	0,2690	1,27	[0,58 - 2,76]	0,5496
< 10 vs ≥ 30 ng/ml	2,23	[0,96 - 5,22]	0,0634	2,62	[1,09 - 6,34]	0,0320
Age du receveur (≥ 55 years vs <55 years)	2,17	[1,27 - 3,71]	0,0045	2,40	[1,38 - 4,17]	0,0019
Sexe du receveur (homme vs femme)	0,96	[0,57 - 1,63]	0,8927	1,05	[0,61 - 1,81]	0,8567
Indice de masse corporelle						
(pour une augmentation de 5 kg/m ²)	1,66	[1,26 - 2,18]	0,0003	1,76	[1,32 - 2,35]	0,0001
Origine géographique (caucasien vs non caucasien)	0,70	[0,33 - 1,48]	0,3513	0,54	[0,25 - 1,17]	0,1169
Antécédents d'hypertension (oui vs non)	0,47	[0,23 - 0,96]	0,0390	0,31	[0,15 - 0,67]	0,0028
Antécédents d'hépatite C (oui vs non)	0,63	[0,09 - 4,55]	0,6474	-	-	-
Antécédents cardiovasculaires (oui vs non)	1,63	[0,98 - 2,74]	0,0619	-	-	-
Antécédents de dyslipidémie (oui vs non)	0,82	[0,47 - 1,40]	0,4606	-	-	-
Polykystose rénale (oui vs non)	0,90	[0,46 - 1,78]	0,7633	-	-	-
Maladie initiale de type récidivante (oui vs non)	0,76	[0,43 - 1,36]	0,3603	-	-	-
Durée de dialyse avant transplantation (années)						
(pour une augmentation d'une année)	1,00	[0,92 - 1,09]	0,9332	-	-	-
HLA B27 et/ou B42 (oui vs non)	1,16	[0,50 - 2,69]	0,7345	-	-	-
Donneur (décédé vs vivant)	1,41	[0,56 - 3,52]	0,4637	-	-	-
Saison de la transplantation (hiver vs été)	0,85	[0,50 - 1,44]	0,5454	-	-	-
Traité par corticostéroïdes (oui vs non)	1,73	[0,96 - 3,12]	0,0668	2,36	[1,27 - 4,40]	0,0068
Traité par tacrolimus (oui vs non)	3,76	[1,50 - 9,41]	0,0046	4,59	[1,80 - 11,70]	0,0014
Type d'induction (anticorps déplétants vs bloquants)	0,56	[0,28 - 1,10]	0,0935	-	-	-

Abréviations : HLA : Human Leucocytes Antigen; HR_a : Hazard Ratio ajusté; IC_a : Intervalle de Confiance ajusté.
La p-value présentée ici est issue du test de Wald.

3.4 Score pronostique du risque de NODAT

Le paramètre de pénalisation est classiquement estimé par validation croisée (cf partie 2.3.3). Cependant, lors de ces estimations sur 250 itérations, notre paramètre λ convergeait vers une valeur faible (moyenne = $1,5 \pm 1,4$) et le nombre de paramètres conservés était important (moyenne = $12,8 \pm 1,8$). Néanmoins, l'AUC de ROCt estimée par bootstrap 0.632+ variait peu (moyenne = $0,677 \pm 0,002$).

Un score comprenant trop de paramètres ne sera pas utile pour la pratique clinique. Nous avons alors décidé de faire varier notre paramètre de pénalisation afin de voir comment se comportait la sélection des variables du score et la valeur de l'AUC. La figure 2 présente les variations de l'AUC de ROCt et le nombre de paramètres retenus en fonction de la valeur de λ . Nous remarquons clairement la différence entre la courbe corrigée par la méthode du bootstrap 0.632+ et la courbe non corrigée, qui surestime fortement les capacités pronostiques. En appendice C, nous pouvons observer l'évolution des coefficients de régression en fonction de la valeur du paramètre de pénalisation. Nous choisissons de fixer $\lambda = 4,7$ car l'AUC corrigée par bootstrap 0.632+ est encore de 0,68 alors que le nombre de coefficients conservés n'est plus que de 7.

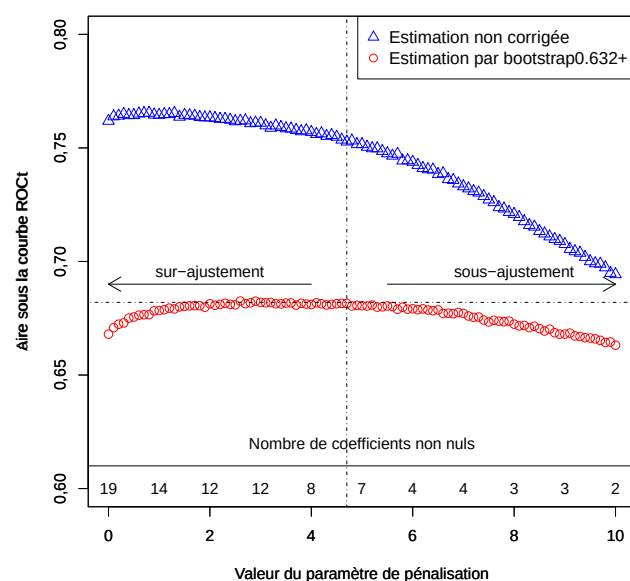


FIGURE 2 : Aire sous la courbe ROCt selon la valeur du paramètre de pénalisation λ (modèle de Cox avec pénalisation de LASSO) pour la prédiction du risque de NODAT sur la première année post-transplantation rénale.

Le score obtenu est présenté tableau V .

Tableau V : Marqueurs pronostiques du NODAT sur la première année post-transplantation rénale ($\lambda = 4,7$, AUC = 0,68). Score réalisé chez des patients transplantés rénaux entre 2000 et 2011 à Nantes.

Marqueurs pronostiques	coefficients
Taux de vitamine D à la greffe < 10 ng/mL	0,1592
Age du receveur ≥ 55 ans	0,3691
Patient traité par corticostéroïdes	0,2590
Patient traité par tacrolimus	0,6283
Indice de Masse Corporelle du receveur normalisé*	0,3616
Patient ayant des antécédents cardiovasculaires	0,0647
Patient ayant des antécédents de dyslipidémie	-0,0761

*centré-réduit

On observe que le taux de vitamine D < 10 ng/mL est un marqueur de mauvais pronostic de survenue d'un NODAT (en opposant les personnes avec un taux < 10 ng/mL à celles avec un taux ≥ 10 ng/mL). L'âge du receveur à la greffe d'au moins 55 ans, un IMC plus élevé, le traitement par corticostéroïdes ou tacrolimus ainsi que la présence d'antécédents cardiovasculaires sont également des marqueurs de mauvais pronostic pour le NODAT. Au contraire, la présence d'antécédents de dyslipidémie est un marqueur de bon pronostic. Le poids de chacun de ces marqueurs dans le score n'est pas le même, par ordre décroissant nous avons : le traitement par tacrolimus, l'âge du receveur, son IMC, le traitement par corticostéroïdes, le taux de vitamine D puis les antécédents de dyslipidémie et cardiovasculaires. Le tacrolimus a un poids très important pour la prédiction du NODAT et il avait déjà un HR élevé dans la section précédente. Nous identifions comme marqueurs pronostiques les mêmes facteurs que ceux associés significativement à la survenue du NODAT dans l'analyse multiva-

riée de corrélation (tableau IV). Même si les coefficients obtenus avec le score ne s'interprètent pas aussi facilement (ce ne sont pas des HR), nous observons que le sens d'association pour chacun des facteurs est bien le même d'après ces deux méthodes. Cependant, la présence d'antécédents d'hypertension apparaissait comme un facteur protecteur dans le modèle de corrélation mais n'est pas inclus dans le groupe des marqueurs pronostiques du NODAT. A l'inverse, la présence d'antécédents cardiovasculaires (marqueur de mauvais pronostic) et de dyslipidémie (marqueur de bon pronostic) apparaissent dans le score alors qu'ils n'avaient pas été identifiés auparavant. La courbe ROCt issue de ce score est présentée figure 3 . L'AUC associée à notre score pronostique est estimée à 0,68 par la méthode du bootstrap 0.632+. Ceci signifie qu'il y a une probabilité de 0,68 qu'un sujet développant un NODAT dans la première année post-transplantation ait un score plus élevé qu'un sujet ne développant pas de NODAT dans la première année post-transplantation. Pour prendre un exemple de seuil à définir pour une utilité pratique de ce score, nous pouvons utiliser l'indice de Youden qui consiste à maximiser $1 - (\widehat{FNR}_\tau^{0.632+}(c) + \widehat{FPR}_\tau^{0.632+}(c))$. L'indice de Youden est maximisé pour un score de 0,1257 pour lequel le taux de faux négatif est estimé à 30,8% et le taux de faux positifs à 42,0%. La limite de l'indice de Youden est qu'il donne la même importance (poids) aux faux négatifs et aux faux positifs. Le seuil est donc optimal selon des considérations mathématiques mais ne tient pas compte des préférences du médecin et du patient (faible réalité clinique).

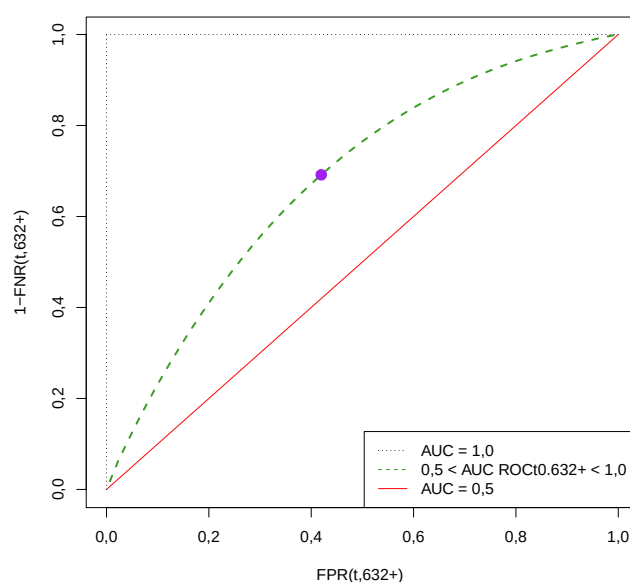


FIGURE 3 : Courbe ROCt du score pronostique du NODAT sur la première année post-transplantation rénale. Le point correspond aux valeurs maximisant l'indice de Youden. Score réalisé chez des patients transplantés rénaux entre 2000 et 2011 à Nantes.

4 DISCUSSION ET CONCLUSION

L'apparition d'un diabète de novo (ou NODAT), est une complication précoce fréquente après transplantation d'un organe solide. Son délai médian d'apparition est de 1,6 à 3 mois post-transplantation [32, 33] et son incidence cumulée à un an post-transplantation varie de 20 à 50% selon les études et le critère de jugement utilisé [34, 35]. Sa survenue augmente le risque d'échec de greffe [10], c'est pourquoi il est important d'identifier les facteurs de risque et les marqueurs pronostiques qui permettraient de personnaliser la prise en charge des patients.

La vitamine D a un rôle désormais bien connu concernant la croissance et la santé osseuse mais, ces dernières années, de nombreuses recherches ont permis de mettre en évidence des effets bien plus larges dans de multiples pathologies [5, 6] ainsi qu'une relation avec la mortalité toutes causes confondues [7, 8].

A partir d'une cohorte de 444 patients greffés d'un rein pour la première fois, entre 2000 et 2011 à Nantes et n'ayant pas d'antécédents de diabète ou de cancer, nous avons étudié la corrélation entre le taux de vitamine D à la greffe et la survenue d'un NODAT. Nous avons ensuite utilisé une approche statistique originale pour déterminer un score prédictif du NODAT à un an post-transplantation.

Dans notre cohorte, 79,3% des patients présentaient un taux de vitamine D inférieur au taux recommandé (< 30 ng/mL) au moment de la greffe dont 19,8% étaient carencés (< 10 ng/mL). Ces proportions sont moins importantes que celles observées dans l'étude de Ducloux et al. réalisée à Besançon : 85,1% étaient en insuffisance de vitamine D (< 32 ng/mL) dont 34,2% étaient carencés (< 10 ng/mL) [36]. Ceci pourrait s'expliquer par la différence d'ensoleillement entre ces deux régions.

L'incidence cumulée à un an post-greffe du NODAT, défini par la prise de médicaments anti-diabétiques, est estimée à 13,4% [IC95% : 10,1% - 16,5%]. L'étude de Kasiske et al., utilisant les mêmes critères d'inclusion et d'exclusion, retrouve une incidence du NODAT à un an comparable à la nôtre (16% ; IC95% : [15,3% - 16,7%]) [10]. Le modèle de survie multivarié a permis d'identifier un nouveau facteur de risque de NODAT, en plus des facteurs de risque déjà connus [37] (tableau IV). Après ajustement sur l'âge, le sexe, l'IMC, l'origine géographique du receveur, les antécédents d'hypertension et les traitements par corticostéroïdes et tacrolimus, les patients insuffisants en vitamine D (entre 10 et 30 ng/mL) à la greffe semblaient plus à risque de développer un NODAT que les patients ayant un taux supérieur ou égal à 30 ng/mL ($HR_{\text{ajusté}} = 1,27$; IC95% : [0,58 - 2,76]) mais cette association n'était pas statistiquement significative. Toutes choses égales par ailleurs, les patients carencés en vitamine D (moins de 10 ng/mL) à la greffe avaient plus de deux fois plus de risque de développer un NODAT que les sujets avec un taux supérieur ou égal à 30 ng/mL ($HR_{\text{ajusté}} = 2,62$; IC95% : [1,09 - 6,34]).

Nous avons ensuite déterminé un score prédictif du NODAT, en utilisant un modèle de Cox avec la pénalisation de LASSO et évalué à l'aide d'algorithmes de rééchantillonnage (bootstrap 0.632+). En effet, les notions de corrélation et de prédiction ne doivent pas être confondues : la p-value nous

indique si une association peut être due au hasard mais elle ne nous permet pas de juger les capacités pronostiques du marqueur [20]. L'utilisation de cette approche nous a permis de sélectionner les variables sur un autre critère que celui de la p-value. Ce score est calculé avec des données pré-greffe et prédit le risque de développer un NODAT à un an post-transplantation. Nous retrouvons plusieurs variables du modèle précédent (le taux de vitamine D, l'âge, l'IMC du receveur, les traitements par tacrolimus et corticostéroïdes) et deux nouvelles apparaissent : les antécédents cardiovasculaires et de dyslipidémie (cette dernière a un effet protecteur). Le taux de vitamine D se révèle donc comme étant aussi un marqueur pouvant participer au pronostic du NODAT. Ce score est composé de 7 variables et a de bonnes capacités pronostiques ($AUC_{0,632+} = 0,68$). Ce travail illustre l'intérêt de méthodes basées sur la pénalisation de LASSO et les techniques de rééchantillonnage, tout particulièrement le bootstrap 0.632+, qui restent valides dans toutes les situations même en présence de surajustement.

Actuellement, la prise en charge clinique des patients diffère selon la présence de facteurs de risque de NODAT. Par exemple, le traitement par cyclosporine sera préféré au traitement par tacrolimus chez les patients aux antécédents d'hépatite C et/ou en surcharge pondérale ($IMC > 30 \text{ kg/m}^2$). Le score que nous proposons, construit à partir de méthodes statistiques adéquates, a donc un intérêt clinique évident. Même s'il possède plus de marqueurs que la règle de décision actuellement utilisée, il reste très facile à appliquer en pratique. Nous avons pour objectif de développer une application disponible sur smartphone.

Notre étude comporte cependant quelques limites. Premièrement, les patients analysés dans notre étude étaient ceux pour lesquels un dosage de vitamine D à la greffe était disponible. Or, nous avons mis en évidence l'existence d'un biais de sélection, les 444 patients dosés ne semblent pas posséder tout à fait les mêmes caractéristiques que les 640 patients non dosés (tableau I). Plus précisément, il semble que notre échantillon d'analyse comporte davantage de greffes préemptives (20,3% vs 11,9%), réalisées en été (56,1% vs 46,6%) de patients atteints de polykystose rénale (18,2% vs 10,9%), traités par tacrolimus (74,5% vs 65,5%) et anticorps déplétants (27,0% vs 21,2%), mais par moins de corticostéroïdes (62,6% vs 75,1%). Ceci peut s'expliquer en partie par le fait que les patients inclus dans notre analyse ont été transplantés plus récemment (61,3% des patients dosés en vitamine D ont été transplantés après 2006 alors que chez les non dosés, seuls 29,1% ont été transplantés après cette date). Ce biais de sélection peut remettre en cause la représentativité de nos résultats. Ceci d'autant plus qu'il s'agit d'une étude monocentrique.

Deuxièmement, la définition du NODAT n'est pas consensuelle. Pendant de nombreuses années, le diagnostic reposait sur la nécessité d'un traitement antidiabétique (définition utilisée dans cette étude). Cependant, les recommandations actuelles formulées par l'ADA (American Diabetes Association) et l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) [9] préconisent l'utilisation de la glycémie comme critère de jugement. Une glycémie anormale doit être confirmée par un second prélèvement pour poser le diagnostic de NODAT. Cette définition est difficile à appliquer sur notre cohorte : les patients transplantés rénaux ont des délais parfois longs entre deux visites et beaucoup de paramètres

influencent le niveau de glycémie. Nous avons donc utilisé le critère du traitement anti-diabétique. Mais, lorsque cette prescription a lieu, le NODAT était déjà présent, et nous n'avons pas géré cette censure à gauche.

Troisièmement, les seuils de vitamine D utilisés peuvent aussi être discutés. Ils ont été définis en population générale et correspondent à la concentration en dessous de laquelle apparaissent les événements indésirables osseux et au-dessus de laquelle les effets bénéfiques se font sentir comme la diminution du risque fracturaire et de chute [38] et non sur les effets extra-osseux. De plus, la population générale n'est pas comparable à la population des insuffisants rénaux terminaux : on sait par exemple que la vitamine D a une demi-vie de 3 semaines en population générale et de 2 mois chez les transplantés rénaux. Enfin, plusieurs études suggèrent que les techniques immunologiques sous évaluent le taux de vitamine D par rapport aux techniques séparatives de chromatographie liquide, couplée à la spectrométrie de masse [39], notamment chez les patients insuffisants rénaux chroniques. Néanmoins, les techniques immunologiques restent les plus utilisées dans la littérature [40, 41]. D'autre part, les dosages réalisés a posteriori doivent être interprétés avec prudence puisqu'il n'existe aucune information quant à la fiabilité des dosages réalisés sur des sérums anciens conservés à -80°C. Cependant, la vitamine D est un stéroïde stable dans le temps.

Quatrièmement, certains patients ont reçu une substitution vitaminique D. Sur la première année, 31 patients ont reçu une prescription de supplémentation dont 4 étaient carencés au moment de la greffe, 20 en insuffisance et 7 avaient un taux respectant les recommandations, au moment de leur greffe. Le délai médian de la première prescription, pour ces patients supplémentés la première année est de 2,6 mois [minimum 0 jours - maximum 359 jours]. Cela peut interférer dans l'estimation de l'association entre la vitamine D et la survenue de complication. Notons que notre étude ne s'est intéressée qu'aux facteurs pré-greffe car notre objectif était de pouvoir pronostiquer la survenue d'un NODAT au moment de la greffe.

Cinquièmement, nous avons remarqué deux relations non attendues et difficiles à expliquer : les antécédents d'hypertension identifiés comme facteurs protecteurs dans le modèle de Cox multivarié ainsi que la dyslipidémie (maladie initiale) identifiée comme marqueur protecteur de NODAT dans le modèle de Cox avec pénalisation de LASSO. Les patients atteints de dyslipidémie sont considérés comme des receveurs avec un pronostic favorable d'après les cliniciens, ce qui pourrait justifier le sens de cette association. Concernant l'hypertension, cela pourrait être dû à un problème de codification. En effet, plus de 90% des patients greffés ont des antécédents d'hypertension. Or, cette définition repose sur la prise de certains médicaments connus comme anti-hypertenseurs, mais ces derniers peuvent parfois être prescrits pour d'autres indications.

Sixièmement, pour nos quatre événements étudiés, nous disposons d'un faible nombre d'observations (fort pourcentage de censure à droite) ce qui crée un manque de puissance statistique qui peut expliquer que nous n'ayons pas pu mettre en évidence de relation significative entre la vitamine D et les cancers ou l'échec de greffe. De plus, le temps de recul dont nous disposons semble faible pour étudier les complications tardives comme les cancers.

Septièmement, le modèle de Cox repose sur l'hypothèse de censure non-informative, c'est-à-dire l'indépendance entre le temps de censure et celui de l'évènement étudié. Or, dans l'étude sur les cancers cutanés épithéliaux, nous avons censuré les patients ayant d'abord eu un cancer d'un autre type ainsi que les retours en dialyse ou les décès. Ces censures ne sont peut être pas toujours indépendantes de l'évènement étudié (si le cancer est lié à un cancer cutané épithélial non dépisté par exemple). Cette réflexion sur la censure informative peut être valable pour les autres évènements (si le décès d'un patient est lié à un NODAT non symptomatique, alors la censure peut être informative).

Huitièmement, nous avons été contraints par les variables proposées dans la base de données. Certaines variables auraient pu être intéressantes mais n'étaient pas disponibles (les antécédents familiaux, le statut tabagique, les habitudes d'expositions solaires).

Neuvièmement, concernant le score pronostique du NODAT construit par pénalisation de LASSO et bootstrap 0.632+, le choix de fixer le paramètre de pénalisation λ est une limite et sa détermination est subjective. Cependant, son évaluation plus objective par validation croisée aboutissait à un nombre de marqueurs pronostiques élevé induisant une application clinique difficilement envisageable. D'autre part, nous n'avons pas pu inclure les interactions car la colinéarité entre les effets propres et les termes d'interactions était trop importante ce qui conduisait à des résultats non pertinents (le nombre de paramètres inclus ne diminuait pas toujours quand le paramètre de pénalisation λ augmentait). Une idée pour résoudre cela serait d'imposer une contrainte de restriction hiérarchique à l'inclusion d'une interaction. Des développements ont été réalisés en régression pour imposer la présence des deux effets principaux pour l'inclusion d'une interaction [42]. Cependant, ils ne concernent pas les modèles de survie. Une autre limite à cette méthodologie est l'absence d'intervalle de confiance pour la courbe ROc corrigée, ce qui ne permet pas d'évaluer la précision des capacités pronostiques de notre score.

Cette étude donne lieu à plusieurs perspectives. Une analyse de sensibilité utilisant le critère de la glycémie pour définir le NODAT est envisagée. De plus, doser en routine la vitamine D à la greffe semble désormais intéressant pour pronostiquer la survenue d'un NODAT. Une étude mécanistique incluant des patients carencés en vitamine D est également en cours afin d'étudier les réactions biologiques chez ces patients, avant et après une supplémentation vitaminique D. L'étude observationnelle présentée ici justifie cette étude clinique. Ces résultats issus d'une cohorte monocentrique doivent néanmoins être confirmés à plus large échelle.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier Florence Gillaizeau pour son aide, sa disponibilité et sa sympathie, ainsi que Yohann Foucher pour ses précieux conseils. Concernant les aspects cliniques, je tiens à remercier Awena Le Fur et le professeur Jacques Dantal de l'équipe ITUN, pour leur collaboration. Merci aussi au docteur Katy Trébern-Launay pour l'extraction des données. Enfin je remercie toute l'EA4275 et l'équipe DIVAT Nantes pour leur sympathie et cette ambiance de travail très agréable et fructueuse.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Programme REIN - Agence de la biomédecine;. Available from : <http://www.agence-biomedecine.fr/Le-programme-REIN#8>.
- [2] Ramagopalan SV, Heger A, Berlanga AJ, Maugeri NJ, Lincoln MR, Burrell A, et al. A ChIP-seq defined genome-wide map of vitamin D receptor binding : associations with disease and evolution. *Genome research*. 2010 Oct;20(10) :1352–1360. PMID : 20736230.
- [3] Haute Autorité de Santé - Utilité clinique du dosage de la vitamine D - Note de cadrage;.
- [4] Cunningham J, Zehnder D. New vitamin D analogs and changing therapeutic paradigms. *Kidney international*. 2011 Apr;79(7) :702–707. PMID : 20962748.
- [5] Courbebaisse M, Souberbielle JC, Thervet E. Potential nonclassical effects of vitamin D in transplant recipients. *Transplantation*. 2010 Jan;89(2) :131–137. PMID : 20098273.
- [6] Pludowski P, Holick MF, Pilz S, Wagner CL, Hollis BW, Grant WB, et al. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality-A review of recent evidence. *Autoimmunity reviews*. 2013 Mar;PMID : 23542507.
- [7] Autier P, Gandini S. Vitamin D supplementation and total mortality : a meta-analysis of randomized controlled trials. *Archives of internal medicine*. 2007 Sep;167(16) :1730–1737. PMID : 17846391.
- [8] Souberbielle JC, Body JJ, Lappe JM, Plebani M, Shoenfeld Y, Wang TJ, et al. Vitamin D and musculoskeletal health, cardiovascular disease, autoimmunity and cancer : Recommendations for clinical practice. *Autoimmunity reviews*. 2010 Sep;9(11) :709–715. PMID : 20601202.
- [9] Davidson J, Wilkinson A, Dantal J, Dotta E, Haller H, Hernández D, et al. New-onset diabetes after transplantation : 2003 International consensus guidelines. Proceedings of an international expert panel meeting. Barcelona, Spain, 19 February 2003. *Transplantation*. 2003 May;75(10 Suppl) :SS3–24. PMID : 12775942.
- [10] Kasiske BL, Snyder JJ, Gilbertson D, Matas AJ. Diabetes mellitus after kidney transplantation in the United States. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2003 Feb;3(2) :178–185. PMID : 12603213.
- [11] Webster AC, Craig JC, Simpson JM, Jones MP, Chapman JR. Identifying high risk groups and quantifying absolute risk of cancer after kidney transplantation : a cohort study of 15,183 recipients. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2007 Sep;7(9) :2140–2151. PMID : 17640312.
- [12] ligue contre le cancer L. Les cancers de la peau ; 2009. Available from : <http://www.ligue-cancer.net/article/publications/brochures-cancers#brochure-23>.
- [13] Ladrière M, Foucher Y, Legendre C, Kamar N, Garrigue V, Morélon E, et al. The western europe cohort of kidney transplanted recipients - the DIVAT network Clinical transplants. *Clinical transplants*. 2010;(2) :460–461.
- [14] Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency : an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2011 Jul;96(7) :1911–1930. PMID : 21646368.

- [15] Statut en vitamine D de la population adulte en France : l'Étude nationale nutrition santé (ENNS, 2006-2007) - Revue de presse;. Available from : <http://docireps971.canalblog.com/archives/2012/06/06/24433922.html>.
- [16] Kaplan EL, Meier P. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. *Journal of the American Statistical Association*. 1958;53(282) :457–481. Available from : <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01621459.1958.10501452>.
- [17] Cox DR. Regression Models and Life-Tables. *Journal of the Royal Statistical Society Series B (Methodological)*. 1972 Jan;34(2) :187–220. ArticleType : research-article / Full publication date : 1972 / Copyright © 1972 Royal Statistical Society. Available from : <http://www.jstor.org/stable/2985181>.
- [18] Schoenfeld D. Chi-squared goodness-of-fit tests for the proportional hazards regression model. *Biometrika*. 1980 Jan;67(1) :145–153. Available from : <http://biomet.oxfordjournals.org/content/67/1/145>.
- [19] Euvrard S, Kanitakis J, Claudy A. Skin cancers after organ transplantation. *The New England journal of medicine*. 2003 Apr;348(17) :1681–1691. PMID : 12711744.
- [20] Foucher Y, Combescure C, Ashton-Chess J, Giral M. Prognostic markers : data misinterpretation often leads to overoptimistic conclusions. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2012 Apr;12(4) :1060–1061. PMID : 22226077.
- [21] Ware JH. The limitations of risk factors as prognostic tools. *The New England journal of medicine*. 2006 Dec;355(25) :2615–2617. PMID : 17182986.
- [22] Tibshirani R. Regression Shrinkage and Selection via the Lasso. *Journal of the Royal Statistical Society Series B (Methodological)*. 1996 Jan;58(1) :267–288. ArticleType : research-article / Full publication date : 1996 / Copyright © 1996 Royal Statistical Society. Available from : <http://www.jstor.org/stable/2346178>.
- [23] Tibshirani R. The lasso method for variable selection in the Cox model. *Statistics in medicine*. 1997 Feb;16(4) :385–395. PMID : 9044528.
- [24] Verweij PJ, Van Houwelingen HC. Cross-validation in survival analysis. *Statistics in medicine*. 1993 Dec;12(24) :2305–2314. PMID : 8134734.
- [25] Heagerty PJ, Lumley T, Pepe MS. Time-dependent ROC curves for censored survival data and a diagnostic marker. *Biometrics*. 2000 Jun;56(2) :337–344. PMID : 10877287.
- [26] Akritas MG. Nearest Neighbor Estimation of a Bivariate Distribution Under Random Censoring. *The Annals of Statistics*. 1994 Sep;22(3) :1299–1327. Mathematical Reviews number (MathSciNet) : MR1311977; Zentralblatt MATH identifier : 0819.62028. Available from : <http://projecteuclid.org/euclid.aos/1176325630>.
- [27] Molinaro AM, Simon R, Pfeiffer RM. Prediction error estimation : a comparison of resampling methods. *Bioinformatics*. 2005 Jan;21(15) :3301–3307. PMID : 15905277. Available from : <http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/21/15/3301>.
- [28] Efron B. Estimating the Error Rate of a Prediction Rule : Improvement on Cross-Validation. *Journal of the American Statistical Association*. 1983 Jun;78(382) :316–331. Available from : http://amstat.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01621459.1983.10477973#.Ue_RjqzqJGM.

- [29] Efron B, Tibshirani R. Improvements on Cross-Validation : The 632+ Bootstrap Method. *Journal of the American Statistical Association*. 1997;92(438) :548–560. Available from : <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01621459.1997.10474007>.
- [30] Foucher Y, Danger R. Time dependent ROC curves for the estimation of true prognostic capacity of microarray data. *Statistical applications in genetics and molecular biology*. 2012;11(6) :Article 1. PMID : 23183763.
- [31] R Development Core Team. R : A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria ; 2012. ISBN 3-900051-07-0. Available from : <http://www.R-project.org/>.
- [32] Kamar N, Mariat C, Delahousse M, Dantal J, Al Najjar A, Cassuto E, et al. Diabetes mellitus after kidney transplantation : a French multicentre observational study. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2007 Jul;22(7) :1986–1993. PMID : 17400559.
- [33] Ali IH, Adberrahim E, Ben Abdelghani K, Barbouch S, Mchirgui N, Khiari K, et al. Incidence and risk factors for post-renal transplant diabetes mellitus. *Transplantation proceedings*. 2011 Mar;43(2) :568–571. PMID : 21440763.
- [34] Montori VM, Basu A, Erwin PJ, Velosa JA, Gabriel SE, Kudva YC. Posttransplantation diabetes : a systematic review of the literature. *Diabetes care*. 2002 Mar;25(3) :583–592. PMID : 11874952.
- [35] Lane JT, Dagogo-Jack S. Approach to the patient with new-onset diabetes after transplant (NODAT). *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2011 Nov;96(11) :3289–3297. PMID : 22058376.
- [36] Ducloux D, Courivaud C, Bamoulid J, Kazory A, Dumoulin G, Chalopin JM. Pretransplant serum vitamin D levels and risk of cancer after renal transplantation. *Transplantation*. 2008 Jun;85(12) :1755–1759. PMID : 18580467.
- [37] Pham PTT, Pham PMT, Pham SV, Pham PAT, Pham PCT. New onset diabetes after transplantation (NODAT) : an overview. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy*. 2011;4 :175–186. PMID : 21760734.
- [38] Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Willett WC, Staehelin HB, Bazemore MG, Zee RY, et al. Effect of Vitamin D on falls : a meta-analysis. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2004 Apr;291(16) :1999–2006. PMID : 15113819.
- [39] Lai JKC, Lucas RM, Banks E, Ponsonby AL, Ausimmune Investigator Group. Variability in vitamin D assays impairs clinical assessment of vitamin D status. *Internal medicine journal*. 2012 Jan;42(1) :43–50. PMID : 21395958.
- [40] Bienaimé E, Girard D, Anglicheau D, Canaud G, Souberbielle JC, Kreis H, et al. Vitamin d status and outcomes after renal transplantation. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2013 Apr;24(5) :831–841. PMID : 23539758.
- [41] Marcén R, Ponte B, Rodríguez-Mendiola N, Fernández-Rodríguez A, Galeano C, Villafruela JJ, et al. Vitamin D deficiency in kidney transplant recipients : risk factors and effects of vitamin D3 supplements. *Transplantation proceedings*. 2009 Aug;41(6) :2388–2390. PMID : 19715928.
- [42] Bien J, Taylor J, Tibshirani R. A lasso for hierarchical interactions ; 2012. 1205.5050. *Annals of Statistics* 2013, Vol. 41, No. 3, 1111-1141. Available from : <http://arxiv.org/abs/1205.5050>.

Appendices

A Modèles de survie pour les objectifs secondaires

Le carcinome cutané épithélial

Tableau VI : Analyses de survie avec des modèles à risques proportionnels de Cox pour étudier la relation entre la vitamine D à la greffe de rein et le temps d'apparition d'un cancer de la peau non mélanome (n=25). Etude réalisée chez des patients greffés du rein seul, pour la première fois, entre 2000 et 2011 à Nantes (n=444).

Variabiles	HR	IC(95%)	p-value	HRa	ICa(95%)	p-value
Taux de Vitamine D à la greffe						
[10 ;30[vs ≥30 ng/ml	0,70	[0,27 - 1,81]	0,4586	0,77	[0,29 - 2,03]	0,6020
< 10 vs ≥ 30 ng/ml	0,42	[0,12 - 1,48]	0,1747	0,41	[0,11 - 1,49]	0,1777
Age du receveur (≥55 years vs <55 years)	1,51	[0,68 - 3,32]	0,3101	1,58	[0,69 - 3,63]	0,2779
Sexe du receveur (Homme vs Femme)	2,02	[0,81 - 5,06]	0,1342	1,75	[0,67 - 4,56]	0,2557
Origine géographique (Caucasien vs no caucasien)	2,93	[0,39 - 21,75]	0,2940	-	-	-
Polykystose rénale (oui vs non)	0,22	[0,03 - 1,64]	0,1406	-	-	-
Antécédents cardiovasculaires (oui vs non)	2,54	[1,15 - 5,60]	0,0212	2,17	[0,94 - 5,01]	0,0712
Durée de dialyse avant transplantation (années), pour une augmentation d'une unité	0,90	[0,73 - 1,09]	0,2835	-	-	-
Saison de la transplantation (Hiver vs été)	1,14	[0,52 - 2,51]	0,7477	-	-	-
Donneur (décédé vs vivant)	1,08	[0,25 - 4,63]	0,9157	-	-	-
Traité par induction (oui vs non)	1,49	[0,20 - 11,14]	0,6978	-	-	-
Type d'induction (Anticorps déplétants vs bloquants)	1,37	[0,61 - 3,10]	0,4457	-	-	-
Traité par tacrolimus (oui vs non)	1,02	[0,45 - 2,32]	0,9708	-	-	-

Abréviations : HR_a : Hazard Ratio ajusté ; IC_a : Intervalle de Confiance ajusté. La p-value présentée ici est issue du test de Wald.

La p-value globale en analyse univariée pour l'association de la vitamine D sur le risque de carcinome cutané épithélial est de 0,379, dans le modèle multivarié final : 0,3541. L'hypothèse de proportionnalité des risques a été vérifiée pour le modèle multivarié final avec les résidus de Schoenfeld (p = 0,45).

Le cancer tous types confondus

Tableau VII : Analyses de survie avec des modèles à risques proportionnels de Cox pour étudier la relation entre la vitamine D à la greffe de rein et le temps d'apparition d'un cancer (n=46). Etude réalisée chez des patients transplantés du rein seul, pour la première fois entre 2000 et 2011 à Nantes (n=444).

Variabiles	HR	IC(95%)	p-value	HRa	ICa(95%)	p-value
Taux de Vitamine D à la greffe						
[10 ;30[vs ≥30 ng/ml	0,78	[0,36 - 1,65]	0,5092	0,79	[0,35 - 1,76]	0,5620
< 10 vs ≥ 30 ng/ml	0,65	[0,26 - 1,59]	0,3438	0,64	[0,25 - 1,63]	0,3471
Age du receveur (≥55 years vs <55 years)	2,31	[1,26 - 4,23]	0,0070	2,80	[1,48 - 5,27]	0,0015
Sexe du receveur (Homme vs Femme)	1,61	[0,85 - 3,06]	0,1468	1,91	[0,99 - 3,72]	0,0551
Origine géographique (Caucasien vs no caucasien)	1,25	[0,45 - 3,50]	0,6691	-	-	-
Polykystose rénale (oui vs non)	0,38	[0,12 - 1,22]	0,1050	-	-	-
Antécédents cardiovasculaires (oui vs non)	1,40	[0,78 - 2,52]	0,2652	-	-	-
Durée de dialyse avant transplantation (années), pour une augmentation d'une unité	0,89	[0,76 - 1,03]	0,1097	0,90	[0,77 - 1,05]	0,1830
Saison de la transplantation (Hiver vs été)	0,87	[0,48 - 1,58]	0,6532	-	-	-
Donneur (décédé vs vivant)	2,17	[0,52 - 8,99]	0,2850	-	-	-
Traité par induction (oui vs non)	0,85	[0,26 - 2,76]	0,7863	-	-	-
Type d'induction (Anticorps déplétants vs bloquants)	1,12	[0,62 - 2,05]	0,7018	-	-	-
Traité par tacrolimus (oui vs non)	0,63	[0,35 - 1,15]	0,1357	0,67	[0,36 - 1,24]	0,2032

Abréviations : HR_a : Hazard Ratio ajusté ; IC_a : Intervalle de Confiance ajusté. La p-value présentée ici est issue du test de Wald.

La p-value globale en analyse univariée pour l'association de la vitamine D sur le risque de cancers toutes causes confondues est de 0,643, dans le modèle multivarié final : 0,6432. L'hypothèse de proportionnalité des risques a été vérifiée pour le modèle multivarié final avec les résidus de Schoenfeld (p = 0,19).

L'échec de greffe

Tableau VIII : Analyses de survie avec des modèles à risques proportionnels de Cox pour étudier la relation entre la vitamine D à la greffe de rein et l'échec de greffe (n=68). Etude réalisée chez des patients transplantés du rein seul, pour la première fois entre 2000 et 2011 à Nantes (n=444).

Variabiles	HR	IC(95%)	p-value	HRa	ICa(95%)	p-value
Taux de Vitamine D à la greffe						
[10;30[vs ≥ 30 ng/ml	0,58	[0,32 - 1,04]	0,0667	0,62	[0,34 - 1,16]	0,1344
< 10 vs ≥ 30 ng/ml	0,82	[0,42 - 1,58]	0,5475	0,84	[0,42 - 1,71]	0,6347
Age du receveur (≥ 55 years vs < 55 years)	1,10	[0,68 - 1,77]	0,6951	1,10	[0,65 - 1,84]	0,7297
Sexe du receveur (Homme vs Femme)	0,96	[0,59 - 1,56]	0,8661	0,81	[0,47 - 1,37]	0,4282
Indice de masse corporelle (kg/m ²), pour une augmentation de 5 unités	0,98	[0,74 - 1,30]	0,8893	0,99	[0,73 - 1,34]	0,9534
Incompatibilités HLA A-B-DR (> 4 vs ≤4)	1,43	[0,84 - 2,43]	0,1886	1,18	[0,68 - 2,05]	0,5554
Antécédents d'hypertension (oui vs non)	0,51	[0,24 - 1,07]	0,0736	0,43	[0,20 - 0,95]	0,0364
Antécédents d'hépatite C (oui vs non)	1,28	[0,79 - 2,07]	0,3102	1,31	[0,79 - 2,20]	0,298
Antécédents cardiovasculaires (oui vs non)	1,46	[0,90 - 2,35]	0,1238	1,29	[0,77 - 2,16]	0,3282
Durée de dialyse avant transplantation (années), pour une augmentation d'une unité	1,05	[0,99 - 1,12]	0,1275	1,05	[0,98 - 1,13]	0,1459
Traité par tacrolimus (oui vs non)	0,51	[0,31 - 0,85]	0,0088	0,54	[0,32 - 0,92]	0,0239
Maladie initiale de type récidivante (oui vs non)	1,66	[1,03 - 2,68]	0,0368	1,53	[0,93 - 2,54]	0,0973
Polykystose rénale (oui vs non)	0,34	[0,12 - 0,92]	0,0344	-	-	-
Traité par induction (oui vs non)	1,23	[0,38 - 3,98]	0,7313	-	-	-
Type d'induction (Anticorps déplétants vs bloquants)	1,21	[0,73 - 2,01]	0,4509	-	-	-
Traité par corticostéroïdes (oui vs non)	1,37	[0,80 - 2,36]	0,2540	-	-	-
Donneur (décédé vs vivant)	3,38	[0,83 - 13,83]	0,0902	-	-	-
Saison de la transplantation (Hiver vs été)	0,66	[0,40 - 1,09]	0,1018	0,66	[0,39 - 1,12]	0,1214

Abréviations : HLA : Human Leucocytes Antigen ; HR_a : Hazard Ratio ajusté ; IC_a : Intervalle de Confiance ajusté. La p-value présentée ici est issue du test de Wald.

La p-value globale en analyse univariée pour l'association de la vitamine D sur le risque d'échec de greffe est de 0,162, dans le modèle multivarié final : 0,3034. L'hypothèse de proportionnalité des risques a été vérifiée pour le modèle multivarié final avec les résidus de Schoenfeld (p = 0,85).

B Représentation graphique de l'hypothèse de proportionnalité des risques

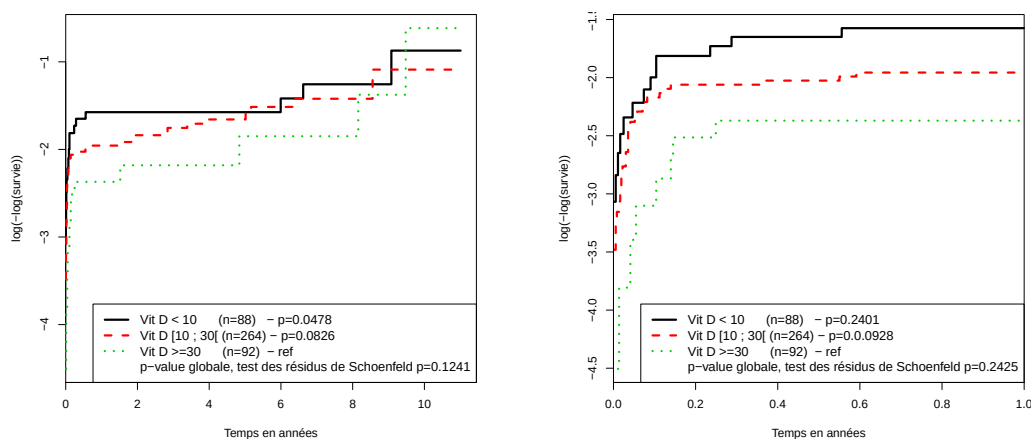


FIGURE 4 : Hypothèse de proportionnalité des risques pour l'étude de la survenue d'un NODAT selon le taux de vitamine D à la greffe (Graphique de gauche : sur toute la période, Graphique de droite : sur la première année post-transplantation). Etude réalisée chez des patients transplantés rénaux entre 2000 et 2011 à Nantes (n=444).

C Evolution de la valeur des coefficients du score pronostique du NODAT selon la valeur du paramètre de pénalisation λ .

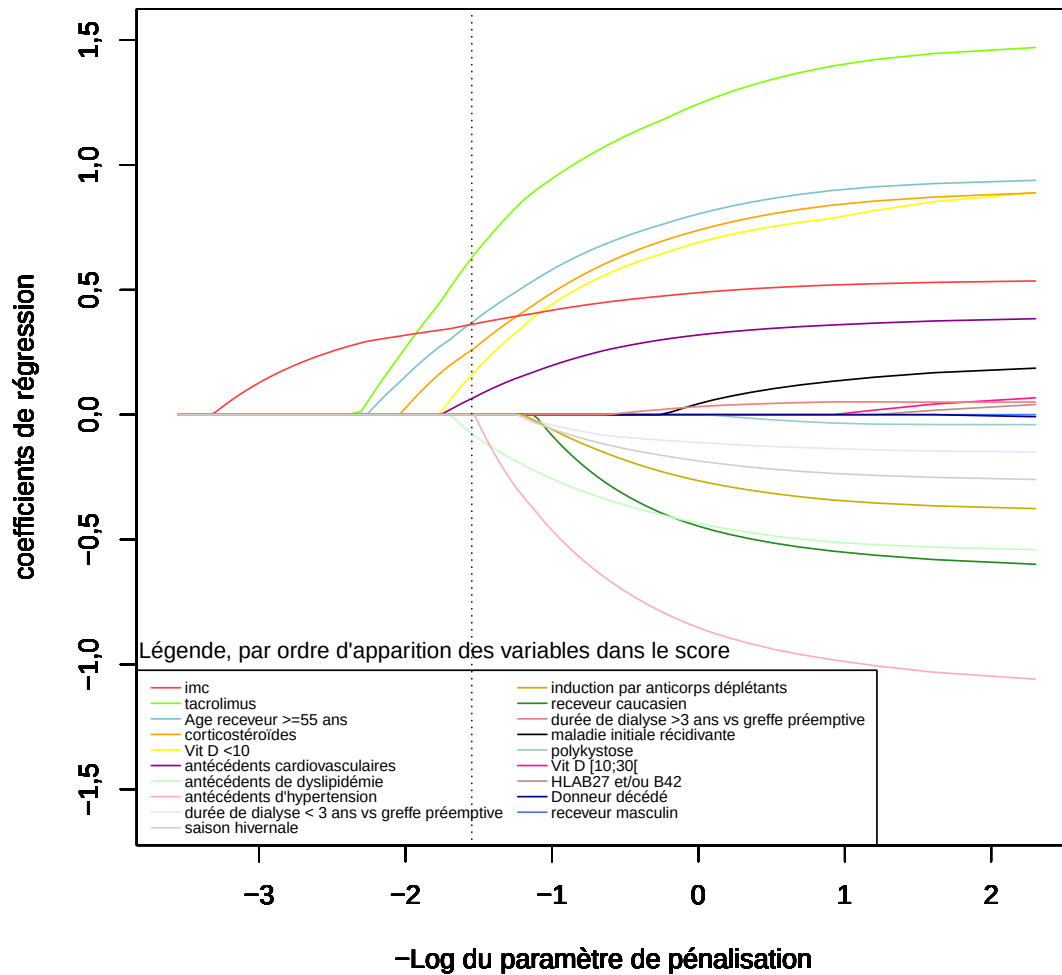


FIGURE 5 : Valeurs des coefficients des marqueurs pronostiques du NODAT sur la première année post-transplantation rénale selon la valeur du paramètre de pénalisation λ (modèle de Cox avec pénalisation de LASSO). Le trait vertical en pointillé correspond à notre λ choisi ($\lambda=4,7$) et donc aux marqueurs pronostiques retenus.

Résumé

Plusieurs études ont montré les effets osseux et extra-osseux de la vitamine D en population générale mais son rôle est méconnu chez les patients transplantés rénaux qui sont pourtant particulièrement à risque de déficit en cette vitamine. A partir de données de 444 patients issus de la cohorte DIVAT (www.divat.fr) greffés du rein pour la première fois entre 2000 et 2011 à Nantes, nous avons étudié l'association entre le taux de vitamine D à la greffe et le délai de survenue de complications, notamment le NODAT (new onset diabetes after transplantation). Nous proposons également un score pronostique du NODAT construit en utilisant un modèle de Cox avec la pénalisation de LASSO et évalué à l'aide d'algorithmes de rééchantillonnage (bootstrap 0.632+). Nous mettons en évidence, après ajustement sur l'ensemble des facteurs de confusion, une association entre le niveau de vitamine D à la greffe et le risque de NODAT : les patients insuffisants (entre 10 et 30 ng/mL) en vitamine D ont plus de risque ($HR_{\text{ajusté}} = 1,27$; IC95% : [0,58-2,76]) de développer un NODAT dans la première année post transplantation que les patients ayant un taux de vitamine D suffisant (≥ 30 ng/mL). Cette association semble s'intensifier pour les patients carencés (< 10 ng/mL) ($HR_{\text{ajusté}} = 2,62$ IC95% : [1,09-6,34]). Par ailleurs, nous obtenons un score pronostique du NODAT sur la première année post transplantation composé de sept marqueurs, incluant la carence en vitamine D. Ce score pourrait permettre d'adapter la prise en charge du patient.

Mots clés : transplantation rénale, Vitamine D, Diabète, LASSO, estimateur bootstrap 0.632+, courbe ROC dépendante du temps.

Abstract

Several studies reported effects of vitamin D on bone metabolism and outside bone in the general population but its role is ignored in kidney transplant recipients, even though they have usually low vitamin D levels. Here, we studied a prospective cohort of 444 kidney recipients (from the DIVAT cohort-www.divat.fr) transplanted between 2000 and 2011 in Nantes. We analyzed the association between vitamin D concentration at the time of transplantation and the occurrence of complications, in particular, the NODAT (new onset diabetes after transplantation). We also propose a prognostic score for NODAT constructed using Cox model with LASSO penalization and its prognostic capacities are evaluated with bootstrap resampling methods (bootstrap 0.632+). We find an independent association between vitamin D concentration at transplantation and risk of NODAT : patients with insufficiency in vitamin D (between 10 and 30 ng/mL) have more risk ($HR_{\text{adjusted}} = 1,27$ CI95% : [0,58-2,76]) to develop a NODAT in the first year post-transplantation than patients with a concentration of vitamin D ≥ 30 ng/mL. This association appears stronger for patients with more deficiency in vitamin D (< 10 ng/mL) ($HR_{\text{adjusted}} = 2,62$ CI95% : [1,09-6,34]). In a second part, we obtain a prognostic score with seven prognostic markers including the deficiency (< 10 ng/mL) in vitamin D. This score is very simple and practical and can be helpful to tailor patient management.

Key Words : Kidney transplantation, Vitamin D, Diabetes mellitus, LASSO, 0.632+ bootstrap estimator, time-dependent ROC curve