

LES GREFFES DE CELLULES SOUCHES HEMATOPOIETIQUES

J.P. JOUET

Février 2007

Introduction

Il est aujourd'hui souhaitable de ne plus parler de « greffe de moelle » mais de « greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) » dans la mesure, d'une part où seules les cellules souches hématopoïétiques sont « intéressantes » en matière de greffe, et d'autre part où la majorité des greffes faites le sont à partir de cellules souches hématopoïétiques d'origine sanguine.

1/ LES DIFFERENTS TYPES DE GREFFES

1.1 LES ALLOGREFFES

L'allogreffe suppose un donneur de CSH, différent du receveur, mais sélectionné en fonction de certains critères d'histocompatibilité avec le receveur.

1.1.1 Il est le plus souvent exigé une compatibilité parfaite entre donneur et receveur dans le système majeur d'histocompatibilité, le système HLA:

- au niveau des antigènes de classe I (HLA-A, HLA-B, HLA-C)

- au niveau des antigènes de classe II (HLA-DRB1, HLA-DQB1)

Actuellement les typages HLA sont fait au niveau allélique dit à « 4 digits » grâce à l'apport de la biologie moléculaire. Ainsi, à titre d'exemple, l'antigène A1 peut se définir : A 0101 ou A 0102... Cette définition des phénotypes exprime parfaitement le polymorphisme du système majeur d'histocompatibilité.

* Dans environ 80% des cas aujourd'hui, le donneur compatible est un frère ou une soeur du receveur: Il s'agit alors d'une greffe dite « **géno-identique** ». Un cas particulier de greffe géno-identique est la greffe « **syngénique** » réalisée entre jumeaux monozygotes.

* Les autres greffes allogéniques sont faites à partir de donneurs volontaires non apparentés, inscrits sur des fichiers nationaux et internationaux. Actuellement plus de 13 millions de donneurs volontaires sont ainsi répertoriés dans le monde. Ces greffes sont dites « **phéno-identiques** ».

1.1.2 Dans certains cas, une moindre compatibilité peut être acceptée; il s'agit alors de greffes « **mismatch** » où existe une différence entre donneur et receveur portant sur un ou plusieurs antigènes HLA.

1.1.3 La compatibilité érythrocytaire ABO Rh n'est pas nécessaire entre donneur et receveur.

1.2 LES GREFFES AUTOLOGUES

Donneur et receveur sont la même personne, porteuse le plus souvent d'une maladie maligne du tissu hématopoïétique ou d'une tumeur solide. Les CSH sont prélevées à un moment de la maladie où l'on pense qu'elle se situe au niveau le plus bas. Après traitement préalable ou

non, elles subissent une congélation et sont cryoconservées pour une durée variable, jusqu'à utilisation à des fins de réinjection autologue.

2/ POURQUOI GREFFER DES CSH?

Deux circonstances peuvent être distinguées:

- Le malade est porteur d'un « déficit » constitutionnel ou acquis de tout ou partie de son tissu hématopoïétique: aplasies médullaires, hémoglobinopathies, déficits immunitaires combinés sévères, anomalies enzymatiques... Dans ces cas le greffon apportera la « partie manquante » au receveur. Il ne peut s'agir que d'allogreffe.

- Le malade est porteur d'une affection maligne du tissu hématopoïétique ou d'une tumeur maligne solide pouvant bénéficier d'une thérapeutique à visée éradicatrice (chimiothérapie très intensive et/ou irradiation étendue). Le greffon apportera alors des CSH en remplacement de celles qui auront été détruites par les traitements antitumoraux. Il peut s'agir alors d'allogreffe ou d'autogreffe. Toutefois seule l'allogreffe apporte, dans ces indications, un élément supplémentaire visant à l'éradication de la maladie : l'immunothérapie que constitue l'action des cellules immuno-compétentes du greffon.

3/ LES DIFFERENTES SOURCES DE CSH

3.1 LA MOELLE OSSEUSE

C'est la source « historique » de CSH, utilisée dans le cadre des allogreffes et des autogreffes. La moelle est prélevée sous anesthésie générale au niveau des crêtes iliaques et éventuellement du sternum. Le volume de moelle prélevée varie avec le poids du receveur; en moyenne 600mL à 1 L (au maximum 20mL/Kg de poids du donneur) permettant de recueillir de l'ordre de 2 à 3 x 10⁸ cellules nucléées par kg de poids de receveur (les progéniteurs hématopoïétiques se trouvent dans les cellules nucléées de la moelle).

Il n'y a pas de risque particulier à cette intervention en dehors du risque habituel lié à l'anesthésie.

Dans le cadre des greffes allogéniques, on propose au donneur, pour améliorer son confort, une autotransfusion; deux semaines environ avant le don de moelle, on réalise un prélèvement de sang sur le donneur (300 à 400ml comme un don de sang habituel); la poche est ensuite conservée et transfusée à ce même donneur au décours immédiat du prélèvement de moelle afin de compenser la déperdition sanguine liée à ce prélèvement.

3.2 LE SANG PERIPHERIQUE

Le sang périphérique adulte renferme physiologiquement un très petit nombre de CSH non utilisables en pratique. Toutefois l'on peut maintenant mobiliser ces CSH grâce aux facteurs de croissance hématopoïétiques. Seul est utilisé maintenant le Colony-Granulocyte-Stimulating-Factor (G-CSF). Les CSH, comptabilisées alors en numérant les cellules CD34+, sont ensuite recueillies par cytophérèse (1 à 3).

Cette source de CSH est surtout utilisée en matière d'autogreffe; les cellules sont mobilisées soit au décours d'un cycle de chimiothérapie suivi de l'administration d'un facteur de croissance en général à la dose de 5 microgrammes/Kg par jour pendant 7 à 12 jours, soit après administration du seul facteur de croissance (10 microgrammes/Kg pendant 4 à 5 jours). De façon plus récente, les CSH périphériques sont également utilisées dans le cadre des allogreffes, les CSH étant mobilisées, bien sûr, par le facteur de croissance seul.

L'intérêt à prélever des CSH périphériques est lié au fait que l'on évite une anesthésie générale (ce qui ne signifie pas que l'administration de G-CSF doit être considérée comme anodine) et que l'on peut recueillir un plus grand nombre de progéniteurs hématopoïétiques.

3.3 LE SANG PLACENTAIRE

Le sang contenu dans le cordon ombilical renferme un grand nombre de CSH, même si le volume de sang en pratique disponible est modeste (80 à 200 ml). Ces CSH sont utilisées essentiellement dans le cadre d'allogreffes non apparentées, très rarement lors de greffes familiales (frère ou soeur d'un malade). Des banques de sang placentaire se sont constituées dans le monde où le sang placentaire est recueilli après autorisation maternelle, puis cryoconservé après que l'on a effectué les typages HLA et les tests de sécurisation microbiologique. Actuellement plus de 350 000 unités sont validées dans ces banques et mises à la disposition des médecins greffeurs.

Les CSH de sang placentaire sont intéressantes car elles présentent, d'un point de vue immunologique, une certaine « naïveté » autorisant probablement une liberté un peu plus grande en matière de compatibilité HLA sans aggraver pour autant les risques de conflits immunologiques post-greffe.

4/LES GREFFES ALLOGENIQUES

4.1 LE DONNEUR

- Familial ou non apparenté, il s'agit le plus souvent aujourd'hui d'un donneur de CSH issues du sang périphérique. En effet depuis quelques années maintenant, partout dans le monde, on réalise plus de greffe de CSH issues du sang périphérique que de greffe de moelle osseuse.

Le don de CSH est, depuis 1994 strictement encadré par la loi de bioéthique (confirmée et étendue en 2004). Les grands principes sont les suivants :

- Gratuité, bénévolat, anonymat (pour les dons non apparentés)
 - Le donneur doit recevoir une information claire. Un bilan clinique et biologique très complet est réalisé afin de s'assurer de l'absence de contre-indications au don. En ce qui concerne le don de moelle osseuse, la décision est *in fine* prise par l'anesthésiste. Le geste réalisé chez le donneur n'a aucun intérêt pour la santé physique de celui-ci : sa sécurité prime donc sur la nécessité de la greffe pour le receveur.
 - Le donneur de moelle osseuse doit exprimer son consentement auprès d'un magistrat. S'il s'agit d'un donneur mineur, les titulaires de l'autorité parentale doivent exprimer le consentement auprès du magistrat et le mineur est lui-même vu par un Comité d'Experts indépendant qui a pouvoir de décision sur le prélèvement
 - Un mineur ne peut donner de CSH issues du sang périphérique.
- Le recours aux CSH de sang placentaire non apparenté, est de plus en plus fréquent :
- Cette source de CSH est inépuisable, pourvu que l'on dispose de moyens suffisants pour constituer les banques.
 - Ces CSH sont facilement disponibles, aisément transportables
 - Les exigences de compatibilité entre donneur et receveur sont moindres
 - Initialement quasiment réservée à la greffe chez l'enfant, en raison d'un nombre de cellules CD 34+ relativement modeste, le sang placentaire est de plus en plus utilisé comme source de CSH chez l'adulte grâce aux possibilités de greffes multi-cordons.

4.2 LE DEROULEMENT DE LA GREFFE

4.2.1 Traitement du receveur

Ce traitement, appelé aussi « conditionnement », est réalisé dans les jours qui précèdent la greffe et a un double but:

- Dans tous les cas il doit assurer une immunosuppression suffisante du receveur afin d'empêcher le rejet de greffe.
- Lorsque le malade est porteur d'une maladie tumorale il doit aussi viser à éradiquer cette maladie.

Le conditionnement fait appel soit à une association chimiothérapie très intensive - irradiation corporelle totale soit à une chimiothérapie très intensive seule.

- La chimiothérapie est souvent constituée d'agents alkylants (cyclophosphamide, busulfan, melphalan) auxquels on peut adjoindre selon les cas des drogues comme l'étoposide, la cytosine arabinosine ou une anthracycline.

- L'irradiation corporelle totale, fractionnée le plus souvent (6 séances en 3 jours), apporte une dose de 12 Gy; seuls les poumons bénéficient d'une protection relative au delà de 10 Gy.

4.2.2 La réinjection des CSH au receveur

Elle se fait, quelque soit la source de CSH, par voie veineuse au jour « zéro »

4.2.3 La prise de greffe

Le conditionnement induit chez le receveur une aplasie médullaire sévère tout à fait comparable aux aplasies post-thérapeutiques que l'on peut observer après toute chimiothérapie intensive (dans le cadre du traitement des leucémies aiguës par exemple) avec les complications anémiques, hémorragiques et infectieuses qui s'y attachent. La prise en charge de cette phase nécessite un encadrement transfusionnel soigneux (obligation notamment de ne transfuser que des dérivés cellulaires irradiés pour éviter des réactions de type greffon contre hôte transfusionnelles), des précautions particulières vis à vis des risques infectieux (chambre stérile, décontamination digestive, alimentation stérile).

La période d'aplasie dure de 2 à 3 semaines environ au terme desquelles la prise du greffon est assurée dans pratiquement tous les cas. Le risque de non prise du greffon (dans les conditions habituelles) est de l'ordre de 1%. Les cellules du donneur re-circulent progressivement assurant un « chimérisme » que l'on peut étudier de différentes façons: changement de groupe érythrocytaire éventuellement, caryotype sur moelle en cas de différence de sexe entre donneur et receveur, biologie moléculaire (RFLP)...A terme, le tissu hématopoïétique, chez le receveur, sera donc exclusivement composé de cellules issues du donneur : c'est le chimérisme complet.

4.3 LES COMPLICATIONS IMMUNOLOGIQUES

4.3.1 Le déficit immunitaire

Le conditionnement induit chez le receveur un déficit immunitaire cellulaire et humoral transitoire (quelques mois) mais constant et important responsable d'éventuelles complications infectieuses, tout à fait comparables à celles que l'on peut observer chez les patients porteurs de syndrome immunodéficient acquis:

- infections virales et notamment CMV, Herpès, Varicelle-Zona, Hemophilus, adénovirus, virus HHV6...

- infections mycotiques : aspergillus, candida, ...

- infections parasitaires: pneumocystis carinii

- infections dites opportunistes: BK, mycobactéries atypiques, Legionella...

Ce risque infectieux est réel et fait pour certains envisager des méthodes de prévention systématiques: antiviraux de type acyclovir, prévention de l'infection à pneumocystis par sulfaméthoxazole ou aérosols de pentamidine, perfusion d'immunoglobulines polyvalentes...

Le risque de pneumopathie interstitielle représente le type même de complication pouvant survenir dans les 3 à 6 mois après une allogreffe de CSH même si une étiologie infectieuse n'est pas toujours seule en cause (interaction avec les conséquences du conditionnement pré-greffe et notamment de l'irradiation pulmonaire).

La reconstitution immunitaire, à partir des cellules souches du donneur, se réalise donc sur plusieurs mois, parfois une année.

4.3.2 Les conflits immunologiques post-greffe entre donneur et receveur.

En dehors des greffes syngéniques, le risque potentiel de conflits immunologiques entre les cellules du greffon et les cellules ou tissus du receveur est toujours présent même en situation de compatibilité HLA apparente. Cependant plus l'on s'éloigne de la situation de compatibilité HLA plus le risque de conflit existe. En situation comparable de compatibilité HLA le risque de conflits immunologiques est beaucoup plus important s'il s'agit d'un donneur non apparenté.

4.3.2.1 Le rejet

Le risque de rejet est, dans les circonstances habituelles de greffe, très faible ($\leq 1\%$) en raison de la très importante immunosuppression induite chez le receveur par le conditionnement.

4.3.2.2 La réaction du greffon contre l'hôte

Le risque de réaction du greffon contre l'hôte est par contre beaucoup plus important car les conditions d'apparition de celle-ci sont réunies après une greffe allogénique de CSH:

- un receveur très immunodéprimé, incapable de rejeter les cellules allogéniques transfusées.
- un greffon riche en cellules allogéniques immunocompétentes (lymphocytes T) qui vont identifier les cellules et tissus du receveur comme « étrangers » au donneur.

Cette réaction immunitaire (en anglais Graft Versus Host Disease: GVHD) est donc liée à la réactivité des cellules immunocompétentes du **donneur** contenues dans le greffon vis à vis d'antigènes cellulaires et/ou tissulaires (HLA ou non) du **receveur** amplifiée par l'action de nombreuses cytokines (IL2, TNF α , interféron γ ...) elles-mêmes produites au décours de lésions cellulaires et/ou tissulaires induites par le conditionnement et/ou la réaction immunitaire elle-même.

La GVHD survient dans près de 30% des cas après une allogreffe familiale géno-identique et plus de 80% des cas après une allogreffe phéno-identique.

Elle se manifeste de deux façons:

- *GVHD aiguë*, survenant classiquement dans les 100 premiers jours après la greffe. Les organes cibles sont essentiellement la peau (éruptions plus ou moins étendues avec parfois véritable décollement cutané), le tube digestif (diarrhées parfois profuses), le foie (ictère cholestatique) mais aussi le poumon (pneumopathies interstitielles)...La gravité est variable allant d'une simple éruption cutanée localisée à un tableau dramatique associant un syndrome de type Lyell, un syndrome dysentérique, une insuffisance hépatique sévère. Le risque de GVHD grave est d'autant plus grand que l'on s'éloigne de la situation d'histocompatibilité familiale « parfaite ». La GVHD aiguë est classée en stades de gravité de I à IV (**TABLEAU I**)

- *GVHD chronique*, survenant classiquement au delà des 100 premiers jours après la greffe. Les manifestations sont très variables d'un malade à l'autre. Cette maladie ressemble à certaines maladies auto-immunes telles la sclérodermie, la cirrhose biliaire primitive, le syndrome de Gougerot-Sjögren, la maladie coeliaque, la bronchiolite oblitérante...Elle peut être extrêmement invalidante et se complique souvent de manifestations infectieuses ce d'autant que le traitement que l'on peut proposer aux patients est souvent une thérapie immunosuppressive. selon le nombre d'organes atteint, la GVHD chronique est classée en GVHD limitée ou extensive (**TABLEAU I**)

TABLEAU I: cotation de la GVH

GVH aiguë

Organe	Grade	Description
Peau	+1	Eruption maculo-papuleuse inférieure à 25% de la surface corporelle
	+2	Eruption maculo-papuleuse entre 25 et 50% de la surface corporelle
	+3	Erythrodermie généralisée
	+4	Erythrodermie généralisée avec formation de bulles s'accompagnant souvent de desquamations
Foie	+1	Bilirubine comprise entre 2 et 3 mg/dl
	+2	Bilirubine comprise entre 3,1 et 6 mg/dl
	+3	Bilirubine comprise entre 6,1 et 15 mg/dl
	+4	Bilirubine supérieure à 15,1 mg/dl
Intestins	+1	Diarrhée supérieure à 30 ml/kg ou supérieure à 500 ml par jour
	+2	Diarrhée supérieure à 60 ml/kg ou supérieure à 1000 ml par jour
	+3	Diarrhée entre 60 et 90 ml/kg ou supérieure à 1500 ml par jour
	+4	Diarrhée entre 60 et 90 ml/kg ou supérieure à 1500 ml par jour ; et douleur abdominale aiguë avec ou sans iléus

*A vérifier par biopsie

Globalité des grades*

Grade	Peau	Foie		Intestins	Classification ECOG
I	+1 à +2	0		0	0
II	+1 à +3	+1	et/ou	+1	0-1
III	+2 à +3	+2 à +3	et/ou	+2 à +3	2-3
IV	+2 à +4	+2 à +4	et/ou	+2 à +4	3-4

**si pas de lésion cutanée,*

GVH chronique

GVH limitée

Soit ou les 2 éléments suivants :

1. Atteinte de la peau localisée.
2. et/ou dysfonction hépatique due à la GVH chronique.

GVH extensive

Soit :

1. Atteinte de la peau généralisée, ou
2. Atteinte localisée de la peau et/ou dysfonction hépatique due à la GVH chronique.

Plus

- 3a. Histologie du foie montrant une hépatite agressive chronique, une nécrose pontée ou une cirrhose, ou
- 3b. Une atteinte de l'œil (test de Schirmer avec humidité inférieure à 5 mm), ou
- 3c. Atteinte des glandes salivaires mineure ou de la muqueuse orale démontrée sur une biopsie labiale, ou
- 3d. Atteinte de tout autre organe cible.

Le traitement de la GVHD comporte deux volets:

- Prévention

La meilleure prévention est le respect de l'histocompatibilité HLA

Un traitement immunomodulateur est pratiquement systématiquement administré: la **ciclosporine**. L'action de cette molécule est assez spécifiquement dirigée contre la

prolifération du lymphocyte T en intervenant sur la production en IL2. La ciclosporine est prescrite le plus souvent pendant environ 6 mois. Sa toxicité, rénale notamment, n'est pas négligeable. D'autres drogues immunomodulatrices (Tacrolimus, Sirolimus...) peuvent être également utilisées, même si aujourd'hui elles ne disposent pas de l'Autorisation de Mise sur le Marché dans cette indication.

Dans la mesure où la GVHD est au moins initiée par les lymphocytes T contenus dans le greffon, l'idée de procéder à un « déplétion » du greffon en lymphocytes T dans le cadre de la prévention de la GVHD est apparue séduisante. Il est techniquement facile, par des méthodes immunologiques, de débarrasser in vitro, avant la ré-injection au receveur, le greffon des cellules immuno-compétentes qu'il contient. Ces techniques réalisées il y a une quinzaine d'années ont permis de diminuer considérablement l'incidence des GVHD graves. Toutefois il est rapidement apparu que l'incidence des rejets de greffes était beaucoup plus élevée et que les patients atteints de maladies malignes avaient un risque de rechute post-greffe beaucoup plus important. En effet la déplétion T du greffon entraînait la disparition non seulement des cellules immunocompétentes induisant la GVHD chez le receveur mais aussi des cellules immunocompétentes du donneur capables de détruire les lymphocytes T résiduels du receveur pouvant elles-mêmes être responsables d'un rejet de greffe (donc risque de rejet accru) et des cellules immunocompétentes du donneur capables de détruire les cellules malignes résiduelles du receveur (donc risque de rechute accru). Ces 2 problèmes ont fait surseoir pendant quelques années aux T déplétions du greffon. Ces techniques sont actuellement reprises en essayant de réaliser des déplétions partielles sensées permettre l'éviction des lymphocytes responsables de la GVHD tout en conservant les autres. Certaines de ces déplétions T du greffon sont actuellement réalisées par une sélection positive des cellules CD34+. Cette fraction ne contient pas de cellules T, CD3+.

Par ailleurs la constatation de l'élévation du risque de rechute après une allogreffe « T-déplétée » a permis de mettre en évidence une véritable activité immunologique du greffon allogénique appelé « **effet GVL (Graft Versus Leukemia)** »: L'effet curateur de l'allogreffe en matière de maladie maligne n'est donc pas seulement lié aux conséquences réductrices du conditionnement pré-greffe sur le volume tumoral mais aussi à une réelle immunothérapie exercée par le greffon vis à vis de la maladie résiduelle du receveur.

- *Traitement curatif de la GVHD aiguë*

En cas de lésions cutanées strictement localisées, un traitement corticoïde local peut suffire.

Si la maladie est plus évoluée, un recours aux immunosuppresseurs est nécessaire: d'abord la corticothérapie (1 à 5 mg/kg/j de prednisone) puis éventuellement, en cas de cortico-résistance, le sérum anti-lymphocytaire voire les anticorps monoclonaux dirigés contre les récepteurs solubles à l'interleukine 2 (anti-rIL2), ou anti-TNF α .

- *Traitement curatif de la GVHD chronique*

Là encore il s'agit de recourir aux immunosuppresseurs: corticoïdes, Mycophénolate mofétil, azathioprine, ...

Il est certain que les traitements de la GVHD aggravent l'immunosuppression induite par le conditionnement pré-greffe et aggravent donc le risque infectieux pour le patient.

4.4 LES COMPLICATIONS NON IMMUNOLOGIQUES

En dehors même des complications infectieuses déjà vues, la réalisation d'une greffe allogénique induit, chez le receveur, de très fréquentes complications liées à la « toxicité » propre à la procédure.

4.4.1 complications rénales

Elles sont liées à la toxicité néphrologique de la ciclosporine, des nombreux antibiotiques utilisés lors du traitement des manifestations infectieuses, des chimiothérapies et/ou de l'irradiation corporelle totale, à la survenue d'un syndrome hémolytique et urémique lui-même induit par la GVHD ou au contraire par la ciclosporine.

4.4.2 complications hépatiques

Au cours du premier mois après la greffe peut survenir une maladie veino-occlusive du foie (MVO). Il s'agit d'une complication qui n'est pas propre à la greffe, survenant dans 10 à 15% des cas, et qui est liée à une prolifération non maligne des cellules endothéliales des vaisseaux centro-lobulaires entraînant l'occlusion de ceux-ci et un tableau clinique et biologique proche de celui observé dans le syndrome de Budd-Chiari. Le pronostic est souvent très sévère. La MVO est le reflet de l'agression de l'endothélium par divers éléments: drogues, irradiation, cytokines, cellules immunocompétentes, virus...).

En dehors de cette situation le foie est très fréquemment lésé, essentiellement en raison des nombreuses toxicités médicamenteuses.

4.4.3 complications pulmonaires

Elles peuvent être les conséquences du conditionnement (irradiation notamment), de la GVHD, des manifestations infectieuses (risque de fibrose). Une surveillance fonctionnelle est nécessaire.

4.4.4 complications endocriniennes

- *Les gonades*

La probabilité de stérilité est très importante en raison de la toxicité du conditionnement sur les cellules reproductrices. Les conservations préventives de sperme doivent, si elles sont possibles, être réalisées. Les conservations ovariennes en vue de réimplantation ou de maturation et fécondation *in vitro* sont actuellement proposées mais sans réelle garantie de bénéfice.

- *La croissance* est très souvent affectée chez le jeune enfant après greffe de CSH surtout s'il y a eu irradiation corporelle totale. Celle-ci est d'ailleurs en général contre-indiquée chez l'enfant de moins de 3 ans.

- *La thyroïde*

Une hypothyroïdie liée à l'irradiation peut être observée. Chez les malades porteurs de GVHD chronique, des phénomènes dys-immunitaires (thyroïdite) sont fréquents.

4.4.5 autres complications

- *Ophthalmologiques*

Les malades ayant reçu une irradiation corporelle totale ont un risque de survenue de cataracte quelques mois ou années après la greffe, ce d'autant qu'ils auront été traités au long cours par les corticoïdes.

- *Osseuses*

Les malades ayant reçu, dans le cadre du traitement d'une GVHD sévère, une corticothérapie prolongée peuvent être atteints d'une ostéonécrose des têtes fémorales et/ou humérales.

- *Métaboliques*

Le risque d'hémosidérose transfusionnelle est grand et des programmes de déplétion en fer sont proposés, essentiellement par saignées.

- *Les risques de cancer secondaire* ne sont pas négligeables. En dehors des syndromes lympho-prolifératifs associés ou non à l'EBV que l'on peut (très rarement en fait) observer dans le cadre des conséquences d'une immunosuppression importante, certaines tumeurs hautement probablement induites sont signalées, notamment des lymphomes ou des tumeurs cutanées : cancers épidermoïde, basocellulaires, ou mélanomes.

- *Retentissement psychologique et difficultés de réinsertion sociale, professionnelle ou familiale* sont observés avec une grande variabilité et probablement le plus souvent méconnus ou sous-estimés.

4.5 LA MORTALITE LIEE A LA GREFFE

L'ensemble des complications immunologiques et non immunologiques induit une mortalité liée à la procédure, c'est à dire indépendante de la pathologie initiale pour laquelle le malade a été greffé, de l'ordre de **15 à 30%**. Ce risque est bien évidemment variable avec l'âge du malade, ses antécédents, l'importance des traitements antérieurs, le degré de compatibilité HLA entre donneur et receveur...**Il faudra, dans tous les cas, tenir compte de ce risque de mortalité liée à la greffe dans le choix de l'indication**

4.6 LES INDICATIONS DE LA GREFFE ALLOGENIQUE DE CSH

Les indications sont résumées sur le tableau ci-dessous.

MALADIES NON MALIGNES

- aplasies médullaires constitutionnelle (maladie de Fanconi) ou acquises
- déficits immunitaires combinés sévères
- hémoglobinopathies (thalassémie, drépanocytose)
- déficit enzymatique portant sur le tissu hématopoïétique (maladie de Gaucher...)
- autres pathologies (ostéopétrose)

MALADIES MALIGNES

- leucémies aiguës myéloïdes, leucémies aiguës lymphoblastiques
- leucémie myéloïde chronique
- syndromes myélodysplasiques
- lymphomes, myélomes, leucémie lymphoïde chronique
- syndromes myéloprolifératifs
- certaines tumeurs solides

Il est évident que tous les patients porteurs d'une des affections citées ne doivent pas obligatoirement recevoir une greffe allogénique. L'indication doit être discutée pratiquement cas par cas, tenant compte de la pathologie, de l'âge du malade et de son statut hématologique précis indiquant un pronostic « sans greffe », de l'existence ou non d'un donneur familial, des risques liés à la procédure que l'on peut estimer pour chaque cas, de l'existence ou non d'une alternative thérapeutique.

Les indications sont présentées sur les **figures 1 et 2** et leur évolution sur les **figure 3 et 4** (source : rapport d'activité 2005 de l'Agence de la biomédecine).

figure 1 : Répartition des indications en 2005 (allogreffes apparentées)

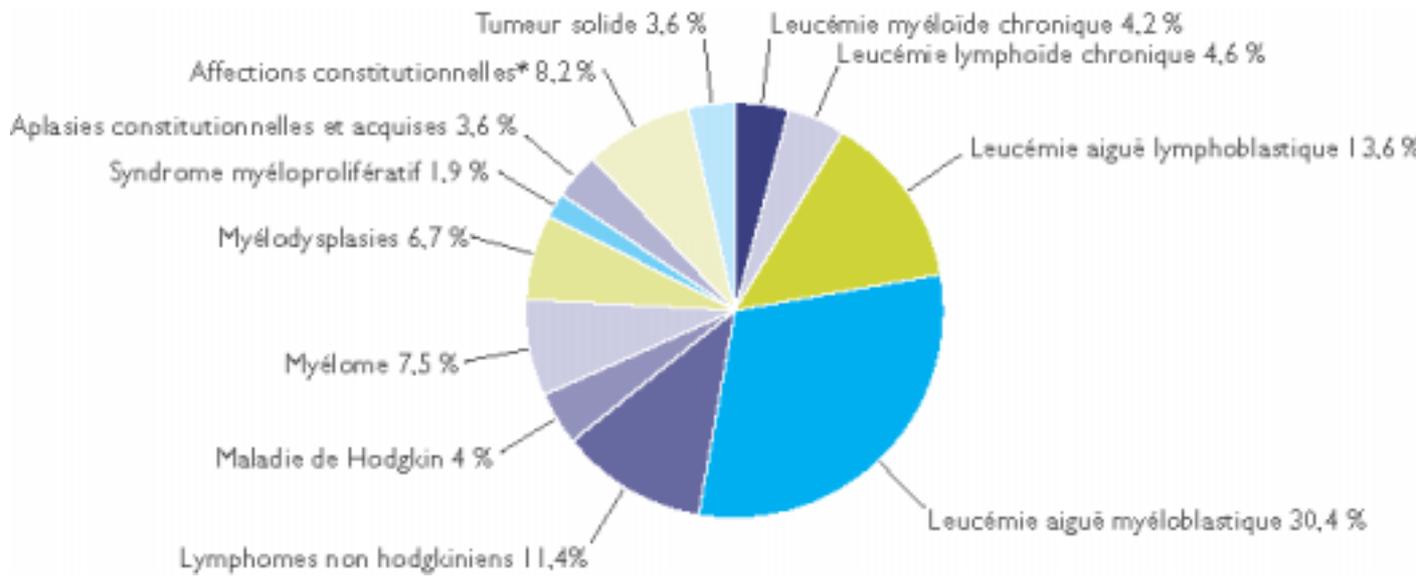


figure 2 : Répartition des indications en 2005 (allogreffes non apparentées)

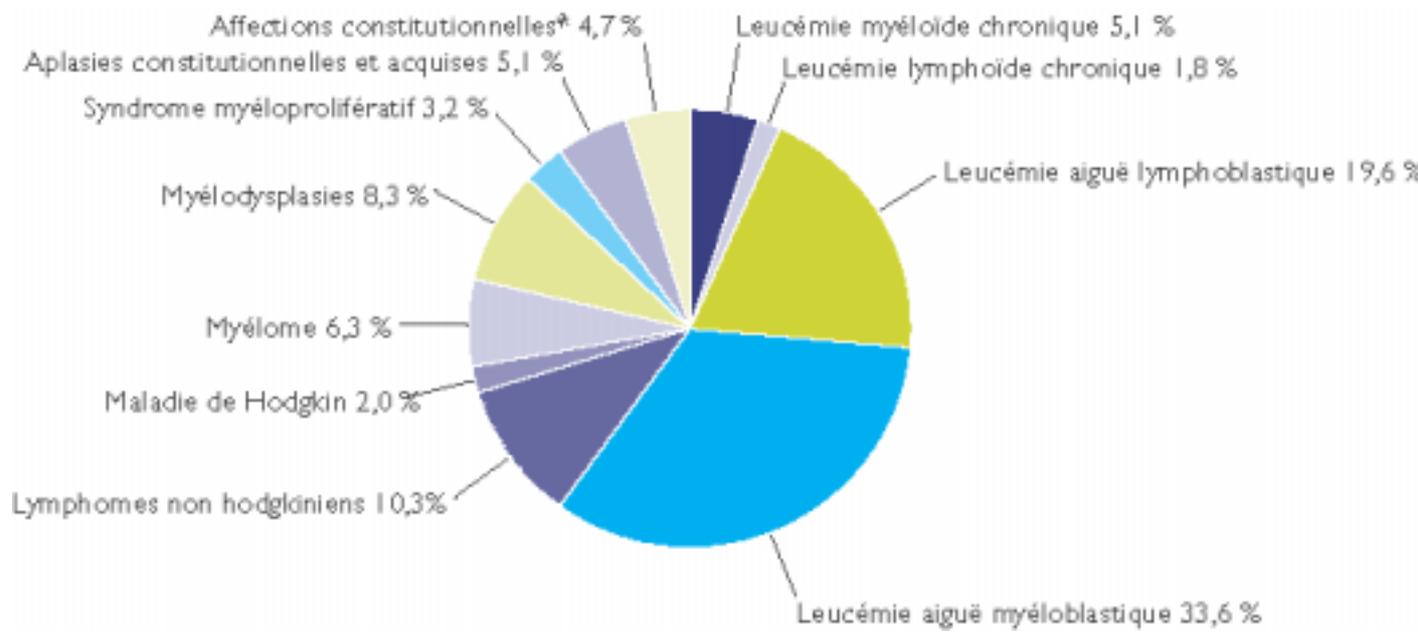


figure 3

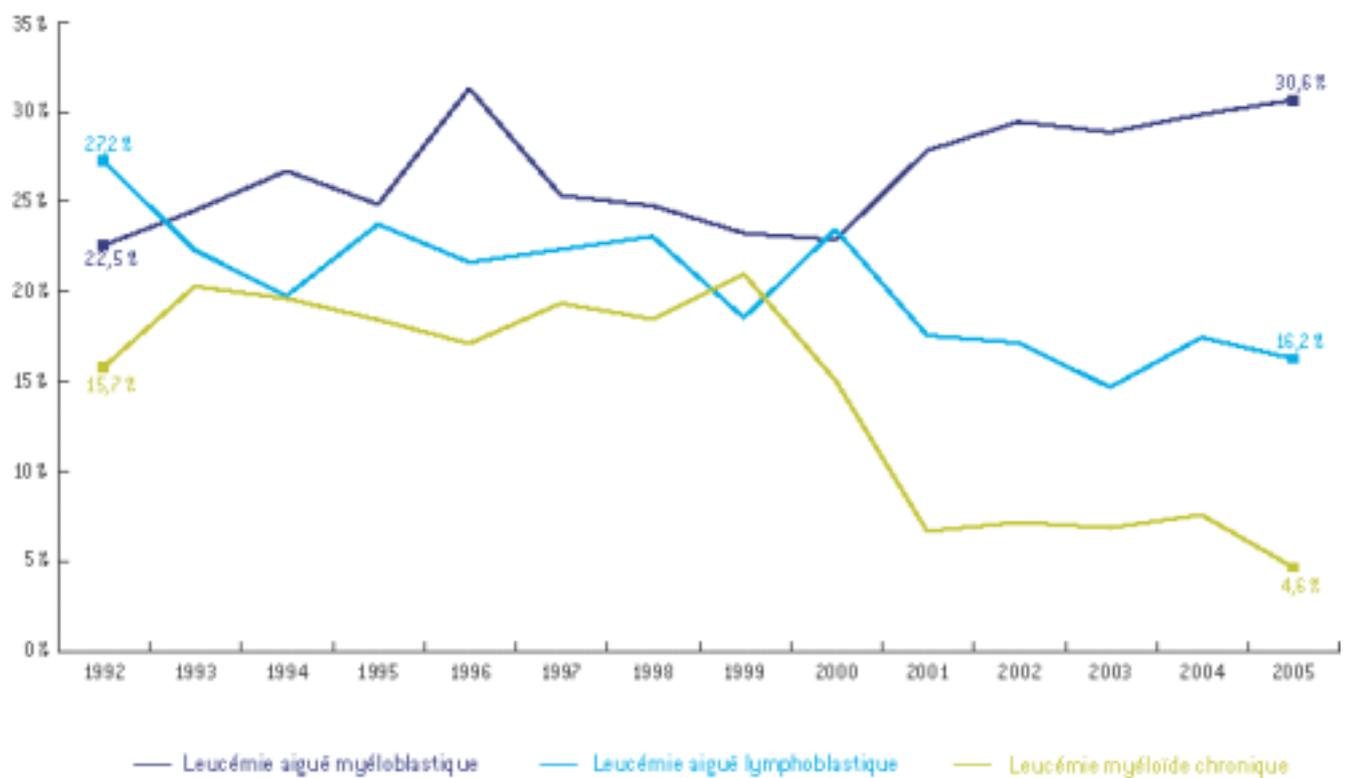
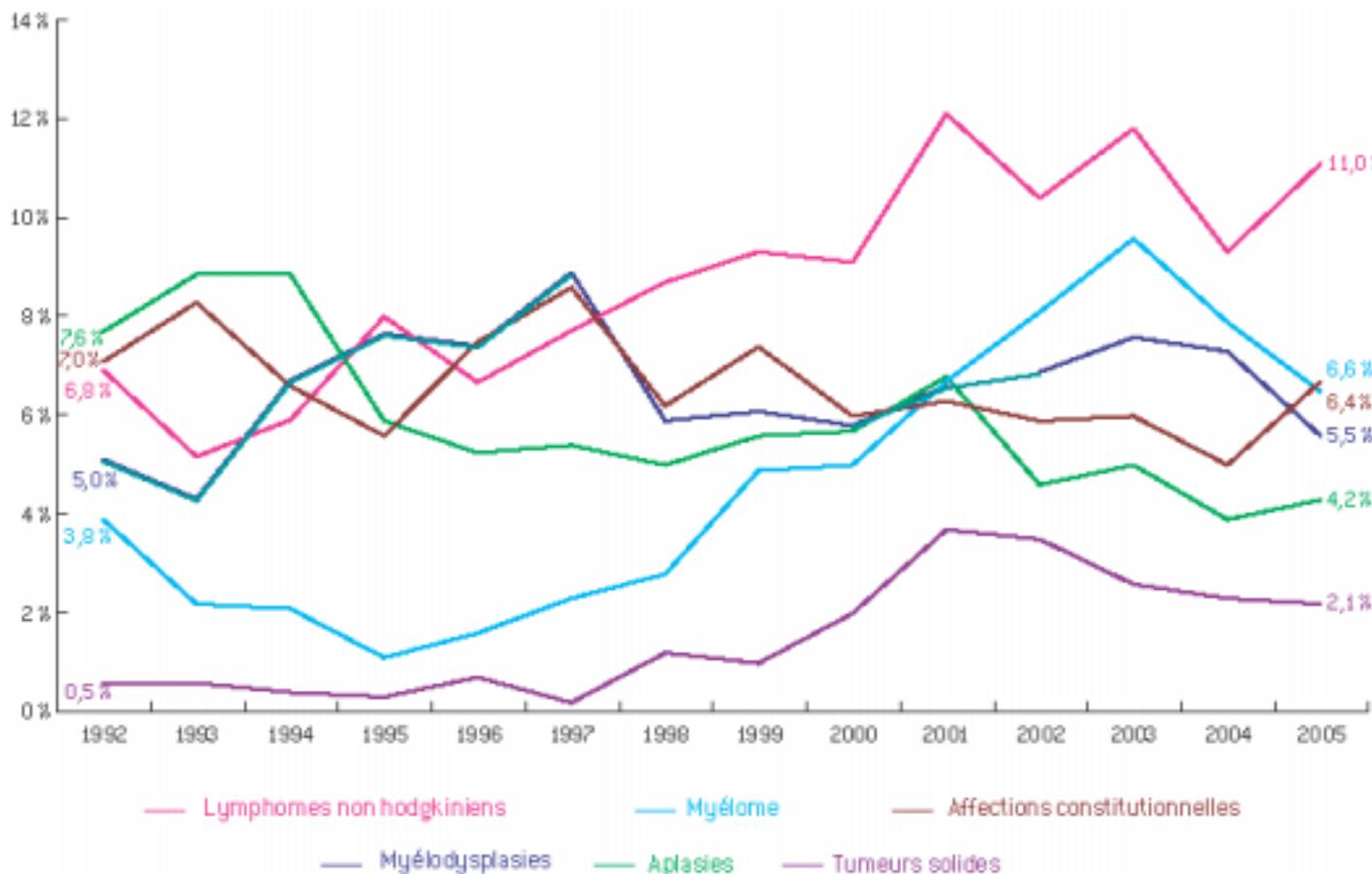


figure 4



4.7 LES RESULTATS DES GREFFES ALLOGENIQUES

Les résultats varient en fonction des facteurs précédemment cités puisqu'ils sont directement liés aux risques de mortalité propres à la procédure et aux risques de rechutes propres à la pathologie initiale et au statut de celle-ci avant la greffe.

Le risque de rechute d'une maladie maligne peut varier de 10 à 40% en fonction de la maladie elle-même et du statut pré-greffe.

L'on peut schématiquement présenter quelques exemples de résultats, en matière de survie, de la façon suivante (source : rapport d'activité 2005 de l'Agence de la biomédecine):

APLASIES MEDULLAIRES ACQUISES:

greffe géno-identique: survie à 5 ans: 68%

greffe phéno-identique: survie à 5 ans: 40%

LEUCEMIE MYELOIDE CHRONIQUE:

greffe géno-identique: survie à 5 ans: 61% *si la maladie est en phase chronique au moment de la greffe*

greffe géno-identique: survie à 5 ans: 36% *si la maladie n'est pas en phase chronique au moment de la greffe*

greffe phéno-identique: survie à 5 ans: 42% *si la maladie est en phase chronique au moment de la greffe*

greffe phéno-identique: survie à 5 ans: 30% *si la maladie n'est pas en phase chronique au moment de la greffe*

LEUCEMIE AIGUE MYELOIDE DE L'ADULTE:

greffe géno-identique: survie à 5 ans: 56% *si la maladie est en 1ère rémission complète au moment de la greffe*

greffe géno-identique: survie à 5 ans: 39% *si la maladie est en 2ème rémission complète au moment de la greffe*

greffe phéno-identique: survie à 5 ans: 38% *si la maladie est en 1ère rémission complète au moment de la greffe*

greffe phéno-identique: survie à 5 ans: 12% *si la maladie n'est pas en 1ère rémission complète au moment de la greffe*

LEUCEMIE AIGUE MYELOIDE DE L'ENFANT:

greffe géno-identique: survie à 5 ans: 72% *si la maladie est en 1ère rémission complète au moment de la greffe*

greffe géno-identique: survie à 5 ans: 45% *si la maladie est en 2ème rémission complète au moment de la greffe*

greffe phéno-identique: survie à 5 ans: 40% *si la maladie est en 1ère rémission complète au moment de la greffe*

greffe phéno-identique: survie à 5 ans: 19% *si la maladie n'est pas en 1ère rémission complète au moment de la greffe*

LEUCEMIE AIGUE LYMPHOBLASTIQUE DE L'ADULTE:

greffe géno-identique: survie à 5 ans: 53% *si la maladie est en 1ère rémission complète au moment de la greffe*

greffe géno-identique: survie à 5 ans: 21% *si la maladie est en 2ème rémission complète au moment de la greffe*

greffe phéno-identique: survie à 5 ans: 40% *si la maladie est en 1ère rémission complète au moment de la greffe*

greffe phéno-identique: survie à 5 ans: 10% *si la maladie n'est pas en 1ère rémission complète au moment de la greffe*

LEUCEMIE AIGUE LYMPHOBLASTIQUE DE L'ENFANT:

greffe géno-identique: survie à 5 ans: 69% *si la maladie est en 1ère rémission complète au moment de la greffe*

greffe géno-identique: survie à 5 ans: 53% *si la maladie est en 2ème rémission complète au moment de la greffe*

greffe phéno-identique: survie à 5 ans: 40% *si la maladie est en 1ère rémission complète au moment de la greffe*

greffe phéno-identique: survie à 5 ans: 10% *si la maladie n'est pas en 1ère rémission complète au moment de la greffe*

SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES:

greffe géno-identique: survie à 5 ans: 34%

MYELOME:

greffe géno-identique: survie à 5 ans: 24%

4.8 L'AVENIR DES ALLOGREFFES DE CSH

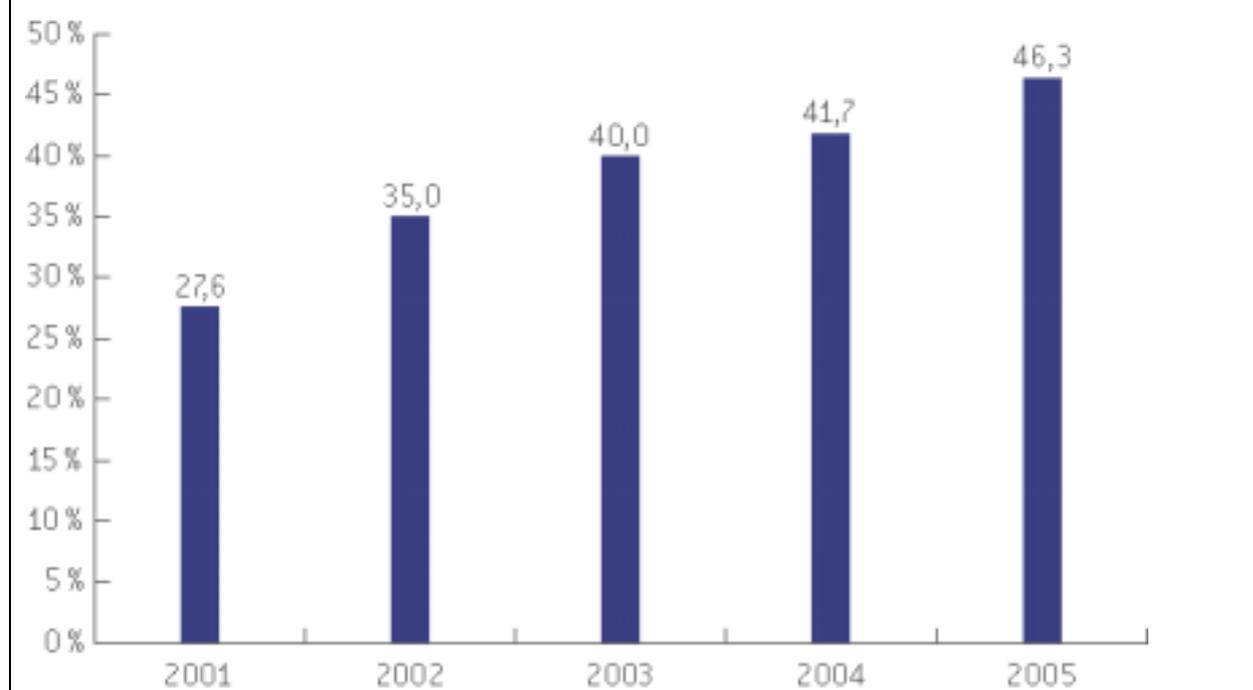
4.8.1 Cet avenir passe de toute évidence par la nécessité d'améliorer les résultats et singulièrement ceux de la greffe avec donneur non apparenté, dans la mesure où le recours à ce type de greffe est de plus en plus fréquent.

Les complications immunologiques constituent encore la grande majorité des complications post greffe. Une meilleure définition de la compatibilité HLA paraît peu envisageable car les progrès réalisés dans les techniques de groupage (recours notamment à la biologie moléculaire) se heurtent à un problème connu de longue date, celui du polymorphisme extrême du système majeur d'histocompatibilité HLA.

Aller au delà de la compatibilité parfaite est une autre voie possible. Le recours au CSH de sang placentaire, plus « naïves ». ces greffes se sont longtemps heurtées au problème de la richesse du greffon en CSH permettant difficilement de greffer des malades de poids supérieur à 70kg. Les techniques d'expansion cellulaire *ex vivo* sont maîtrisées mais les applications pratiques difficiles à mettre en œuvre. Des programmes de greffes « multi-cordons » sont en cours de développement et paraissent aujourd'hui plus accessibles. Le développement des greffes apparentées « mismatch » voire « haplo-identiques » est encore difficile car les résultats prometteurs de certaines équipes semblent difficiles à reproduire.

4.8.2 L'autre challenge est sans doute le développement des greffes avec conditionnement réduit (ou conditionnement atténué ou très improprement « mini-greffes »). Elles constituent aujourd'hui presque la moitié des greffes allogéniques de CSH

Figure 5 : Evolution du pourcentage d'allogreffes de CSH réalisées après un conditionnement d'intensité réduite par rapport au nombre total d'allogreffes (source : rapport d'activité 2005 de l'Agence de la biomédecine).



Ces greffes associent un conditionnement pré greffe moins intensif, non myélo-ablatif, essentiellement immuno-supresseur, un recours dans la majorité des cas aux CSH issues du sang périphérique et une exploitation de l'effet GVL en réduisant la durée de l'immunosuppression post greffe et en ré-injectant à distance de la greffe des lymphocytes CD3+ du donneur. Ces greffes sont globalement mieux tolérées, avec une mortalité directe

moindre et sont donc accessibles à des patients plus âgés et/ou en moins bonne condition physique. Cette technique de greffe ne résout pas bien entendu tous les problèmes, notamment du fait que la ré-injection des lymphocytes du donneur est susceptible de provoquer une GVHD aiguë parfois grave.

4.9 quelques chiffres

1205 allogreffes ont été réalisées en France en 2005 chez 1172 patients (+ **23% par rapport à 2004**). Le greffon a été constitué de moelle osseuse dans **39,3 %** des cas, de sang périphérique dans 49,1% des cas et de sang placentaire dans 11,6% des cas. Il s'agissait dans 42,6% des cas d'une greffe phéno-identique (+ **65% par rapport à 2004**), dans 53,6% des cas d'une greffe géno-identique, dans 1,1% des cas d'une greffe syngénique, et dans 2,7% des cas d'une greffe en situation de mismatch familial.

5/ LES GREFFES AUTOLOGUES

5.1 AVANT LA GREFFE

Donneur et receveur sont la même personne. Le malade, porteur dans la très grande majorité des cas d'une maladie maligne, bénéficie du prélèvement de CSH à un moment où l'on suppose que le volume tumoral correspondant à la maladie initiale est le plus faible possible: rémission complète dans les leucémies aiguës ou les lymphomes, très bonne réponse partielle dans les lymphomes ou les myélomes. Le plus souvent donc, le malade aura préalablement déjà subi un traitement cyto-réducteur et ce n'est qu'après avoir évalué l'efficacité du traitement sur le volume tumoral que la décision de recueil de CSH sera prise.

Le recueil de CSH sanguines a le plus souvent lieu au décours d'un cycle de chimiothérapie suffisamment intensif pour entraîner une hypoplasie médullaire; c'est au sortir de cette période d'aplasie, le plus souvent accélérée par l'administration d'un facteur de croissance (G-CSF). Il peut également avoir lieu en dehors de toute chimiothérapie préalable, après que le patient ait reçu pendant 4 à 5 jours un facteur de croissance (G-CSF) à dose relativement élevée.

Le recours aux CSH d'origine médullaire est devenu quasi exceptionnel.

Le greffon est ensuite congelé en azote liquide, après un éventuel traitement préalable (cf. infra) puis cryoconservé pendant une durée variable en fonction des besoins du malade.

5.2 LE DEROULEMENT DE LA GREFFE

5.2.1 Traitement du receveur

Ce traitement, le « conditionnement » est tout à fait comparable au traitement réalisé avant allogreffe; il n'a toutefois qu'un but éradicateur dans la très grande majorité des cas correspondant à des patients porteurs de maladies malignes. Dans les très rares cas de traitement de maladies auto-immunes (cf. infra) ce conditionnement est bien entendu délivré dans un but d'immunosuppression visant en quelque sorte à « éradiquer l'auto-immunité ».

5.2.2 La réinjection des CSH au receveur

Elle se fait par voie veineuse au jour « zéro », après décongélation en bain-marie

5.2.3 La prise de greffe

Le conditionnement induit chez le malade une aplasie médullaire sévère tout à fait comparable aux aplasies post-thérapeutiques que l'on peut observer après toute chimiothérapie intensive. La prise en charge de cette phase est le plus souvent assez superposable à celle concernant les allogreffes.

La période d'aplasie est toutefois souvent plus courte qu'après allogreffe ce d'autant qu'il s'agit souvent de greffe de CSH issues du sang périphériques. La prise du greffon est assurée dans pratiquement tous les cas.

5.3 LES COMPLICATIONS IMMUNOLOGIQUES

5.3.1 Le déficit immunitaire

Le conditionnement induit là encore chez le malade un déficit immunitaire cellulaire et humoral transitoire mais constant toutefois moins important et moins durable qu'après allogreffe mais néanmoins responsable d'éventuelles complications infectieuses.

Il n'y a pas, bien sûr d'autres complications immunologiques après greffe autologue.

5.4 LES COMPLICATIONS NON IMMUNOLOGIQUES

Les risques de complications liées à la « toxicité » propre à la procédure sont considérablement moins élevés qu'après allogreffe.

5.5 LA MORTALITE LIEE A LA GREFFE

Nettement moins importante qu'en cas de greffe allogénique, elle est **le plus souvent nettement inférieure à 5%**

5.6 LE RISQUE DE RECHUTE DE MALADIE MALIGNE APRES AUTOGREFFE

est par compte beaucoup plus important qu'après allogreffe. En effet:

5.6.1 L'effet GVL n'existe pas après greffe de CSH autologues.

5.6.2 Le greffon, même prélevé à un moment de la maladie où le volume tumoral est supposé très faible (rémission complète ou très bonne réponse partielle selon les pathologies), peut renfermer des cellules malignes résiduelles.

Il a été montré, dans des cas particuliers de lymphomes ou de LMC (par des techniques de marquage génique) que ces cellules malignes, prélevées en même temps que les CSH saines pouvaient participer à la rechute post-greffe. Cela ne signifie pas cependant qu'elles sont la seule source de rechute (il faut se rappeler que les patients recevant un greffon allogénique - donc a priori sain- peuvent aussi rechuter après la greffe). Néanmoins l'on peut imaginer qu'il peut être intéressant d'essayer de débarrasser le greffon de cellules tumorales résiduelles: ce sont les « purges ». Ces purges peuvent être:

- **négatives**. Dans ce cas le principe est d'essayer de détruire les cellules tumorales.

Les purges négatives peuvent être *chimiques*: incubation ex vivo avant congélation du greffon avec un dérivé d'une drogue cytotoxique (le plus souvent la mafosfamide, dérivée de la cyclophosphamide); les CSH saines, même moins sensibles à l'action de la drogue que les cellules malignes, sont toutefois lésées par ce traitement témoignant de reconstitution hématopoïétique parfois très longue.

Elles peuvent également être immunologiques: incubation du greffon avec un (ou plusieurs) anticorps monoclonal(aux) capable(s) de reconnaître un (ou plusieurs) antigène(s) à la surface de la cellule tumorale; les cellules malignes sont ensuite détruites (complément) ou séparées des CSH saines par des méthodes de tri cellulaire. Malheureusement peu d'antigènes cellulaires sont spécifiques d'une tumeur...

- **positives**. Le principe est alors d'essayer de « n'extraire » du greffon que les CSH saines et de ne cryoconserver que celles-ci.

L'on sait que les CSH se trouvent dans une fraction cellulaire dite « CD 34 positive ». Il est possible actuellement d'isoler par des procédés immunologiques les cellules CD34+ et de ne cryoconserver que cette fraction; encore faut il bien sûr s'assurer que les cellules malignes caractérisant la maladie du patient ne soient pas elles-mêmes CD 34+.

5.6 LES INDICATIONS DE LA GREFFE AUTOLOGUE DE CSH (source : rapport d'activité 2005 de l'Agence de la biomédecine)

Dans la mesure où le principe d'intensification thérapeutique dans le cadre des maladies malignes est basé sur le concept du rapport « dose/intensité », l'on peut concevoir que les indications des greffes autologues de CSH sont étendues à la quasi totalité de ces maladies.

5.6.1 Les hémopathies malignes représentent 88,5% des indications qui se répartissent ainsi:

- Myélome: 42.2%
- Lymphomes non hodgkiniens: 38.4%
- Maladie de Hodgkin: 9.9%
- Leucémie aiguë myéloïde: 6.8%
- Leucémie aiguë lymphoblastique: 0,7%
- Leucémie lymphoïde chronique: 1,5%

Ces autogreffes peuvent être réalisées soit dans le cadre d'une intensification thérapeutique précoce (LNH, myélome, LA...), soit dans le cadre d'une consolidation d'un traitement de rechute (LNH, Hodgkin, LA...).

5.6.2 Parmi les tumeurs solides (11,5% des indications), le cancer du sein constitue 17,8% des indications, le neuroblastome 16,9%, les autres tumeurs du système nerveux 22,6%, les tumeurs ovariennes 8,6%, les tumeurs germinales 11,5%, les tumeurs osseuses 10%.

5.6.3 Ces dernières années un nouveau type d'indication est apparu: le traitement de **certaines maladies auto-immunes**. Le principe est d'assurer une immunosuppression importante grâce au conditionnement pré-greffe et de restaurer l'hématopoïèse en injectant des CSH autologues prélevées antérieurement après stimulation par un facteur de croissance. Les indications sont encore limitées à ce jour: Il s'agit essentiellement de patients porteurs de sclérose en plaques, de sclérodermie, de lupus érythémateux disséminé.

5.7 LES RESULTATS DES GREFFES AUTOLOGUES

5.7.1 Il est très difficile de présenter les résultats des autogreffes tant les indications sont diversifiées et les statuts des maladies au moment de la greffe variables.

Néanmoins l'on sait qu'il est très nettement préférable que la maladie soit, au moment de la greffe, à un niveau le plus bas possible; les résultats des greffes faites en situation d'état réfractaire à la chimiothérapie (LNH et Hodgkin notamment) sont particulièrement médiocres.

5.7.2 En matière de myélome, l'autogreffe de CSH ne permet que de façon quasi exceptionnelle de réelles guérisons. Par contre, il est maintenant prouvé que ces greffes, surtout réalisées précocement, c'est à dire intégrées au schéma thérapeutique initial, allonger de façon significative la durée de survie des malades (60% de survie à 3 ans).

5.7.3 Il est recommandé de se reporter aux résultats globaux des traitements dans lesquels est inclus l'autogreffe de CSH

5.8 L'AVENIR DES AUTOGREFFES DE CSH

L'intensification thérapeutique avec réinjection de cellules souches hématopoïétiques autologues, dans le cadre des schémas de traitement de maladies malignes a

incontestablement un avenir prometteur: La technique est simple; le risque est relativement faible. Le problème est bien sûr celui des rechutes post-greffe qui fait poser la question de l'absence d'effet « GVL » et celle de la « contamination » du greffon en cellules malignes. Les techniques de « purges » vont en s'affinant mais le problème de la détection de la maladie résiduelle et de sa signification demeure. Pour pallier à l'absence d'effet immunothérapeutique du greffon, la possibilité de réaliser, après la greffe, une immunomodulation chez le malade existe mais les modalités restent à préciser.

En France, en 2005 2777 patients ont reçu 3121 autogreffes de CSH. (source : rapport d'activité 2005 de l'Agence de la biomédecine)

**Vous êtes invité à consulter le site de l'Agence
de la biomédecine :
agence-biomedecine.fr**