

Les cellules souches hématopoïétiques : définition, origines et principales utilisations thérapeutiques

Maëlle Mauzon

▶ **To cite this version:**

Maëlle Mauzon. Les cellules souches hématopoïétiques : définition, origines et principales utilisations thérapeutiques. Sciences pharmaceutiques. 2011. hal-01738828

HAL Id: hal-01738828
https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01738828

Submitted on 20 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITE HENRI POINCARE - NANCY 1

2011

FACULTE DE PHARMACIE

Les cellules souches hématopoïétiques : définition, origines et principales utilisations thérapeutiques.

T H E S E

Présentée et soutenue publiquement

Le 04/07/2011

pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par **Maëlle Mauzon**
née le 15 Mai 1986 à Metz (57)

Membres du Jury

Président : Mme Béatrice FAIVRE, Maître de Conférences, Faculté de Pharmacie de Nancy.

Juges : Mme Danièle BENSOUSSAN, Pharmacien, Praticien Hospitalier UTCT (Unité de Thérapie Cellulaire et Tissus), CHU de Nancy.

Mme Véronique LATGER-CANNARD, Docteur en Médecine, Service d'Hématologie Biologique, CHU Nancy.

Mme Béatrice DEMORE, Maître de Conférences et praticien hospitalier, Faculté de Pharmacie de Nancy.

FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2010-2011

DOYEN
Francine PAULUS
Vice-Doyen
Francine KEDZIEREWICZ
Directeur des Etudes
Virginie PICHON
Président du Conseil de la Pédagogie
Bertrand RIHN
Président de la Commission de la Recherche
Christophe GANTZER
Président de la Commission Prospective Facultaire
Jean-Yves JOUZEAU
Référent de la Cellule de Formations Continue et Individuelle
Béatrice FAIVRE

Responsable ERASMUS :	Francine KEDZIEREWICZ
Responsable de la filière Officine :	Francine PAULUS
Responsables de la filière Industrie :	Isabelle LARTAUD, Jean-Bernard REGNOUF de VAINS
Responsable du Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier :	Jean-Michel SIMON
Responsable Pharma Plus E.N.S.I.C. :	Jean-Bernard REGNOUF de VAINS
Responsable Pharma Plus E.N.S.A.I.A. :	Bertrand RIHN

DOYENS HONORAIRES
Chantal FINANCE
Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES
Jeffrey ATKINSON
Marie-Madeleine GALTEAU
Gérard SIEST
Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES
Roger BONALY
Pierre DIXNEUF
Thérèse GIRARD
Maurice HOFFMANN
Michel JACQUE
Lucien LALLOZ
Pierre LECTARD
Vincent LOPPINET
Marcel MIRJOLET
François MORTIER
Maurice PIERFITTE
Janine SCHWARTZBROD
Louis SCHWARTZBROD

ASSISTANT HONORAIRE
Marie-Catherine BERTHE
Annie PAVIS

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES
Monique ALBERT
Gérald CATAU
Jean-Claude CHEVIN
Jocelyne COLLOMB
Bernard DANGIEN
Marie-Claude FUZELLIER
Françoise HINZELIN
Marie-Andrée IMBS
Marie-Hélène LIVERTOUX
Bernard MIGNOT
Jean-Louis MONAL
Dominique NOTTER
Marie-France POCHON
Anne ROVEL
Maria WELLMAN-ROUSSEAU

ENSEIGNANTS	*Section CNU**	*Discipline d'enseignement*
PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS		
Chantal FINANCE	*82*	*Virologie, Immunologie*
Jean-Yves JOUZEAU	*80*	*Bioanalyse du médicament*
Jean-Michel SIMON	*81*	*Economie de la santé, Législation pharmaceutique*
PROFESSEURS DES UNIVERSITES		
Gilles AULAGNER	*86*	*Pharmacie clinique*
Jean-Claude BLOCK	*87*	*Santé publique*
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	*86*	*Pharmacologie*
Pascale FRIANT-MICHEL	*85*	*Mathématiques, Physique*
Christophe GANTZER	*87*	*Microbiologie*
Max HENRY	*87*	*Botanique, Mycologie*
Pierre LABRUDE	*86*	*Physiologie, Orthopédie, Maintien à domicile*
Isabelle LARTAUD	*86*	*Pharmacologie*
Dominique LAURAIN-MATTAR	*86*	*Pharmacognosie*
Brigitte LEININGER-MULLER	*87*	*Biochimie*
Pierre LEROY	*85*	*Chimie physique*
Philippe MAINCENT	*85*	*Pharmacie galénique*
Alain MARSURA	*32*	*Chimie organique*
Patrick MENU	*86*	*Physiologie*
Jean-Louis MERLIN	*87*	*Biologie cellulaire*
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	*86*	*Chimie thérapeutique*
Bertrand RIHN	*87*	*Biochimie, Biologie moléculaire*
MAITRES DE CONFÉRENCES - PRATICIENS HOSPITALIERS		
Béatrice DEMORE	*81*	*Pharmacie clinique*
Nathalie THILLY	*81*	*Santé publique*
MAITRES DE CONFÉRENCES		
Sandrine BANAS	*87*	*Parasitologie*
Mariette BEAUD	*87*	*Biologie cellulaire*
Emmanuelle BENOIT	*86*	*Communication et santé*
Isabelle BERTRAND	*87*	*Microbiologie*
Michel BOISBRUN	*86*	*Chimie thérapeutique*
François BONNEAUX	*86*	*Chimie thérapeutique*
Ariane BOUDIER	*85*	*Chimie Physique*
Cédric BOURA	*86*	*Physiologie*
Igor CLAROT	*85*	*Chimie analytique*
Joël COULON	*87*	*Biochimie*
Sébastien DADE	*85*	*Bio-informatique*
Dominique DECOLIN	*85*	*Chimie analytique*
Roudayna DIAB	*85*	*Pharmacie clinique*
Joël DUCOURNEAU	*85*	*Biophysique, Acoustique*
Florence DUMARCAY	*86*	*Chimie thérapeutique*
François DUPUIS	*86*	*Pharmacologie*

ENSEIGNANTS (suite)	*Section CNU**	*Discipline d'enseignement*
Raphaël DUVAL	*87*	*Microbiologie*
Béatrice FAIVRE	*87*	*Hématologie*
Adil FAIZ	*85*	*Biophysique, Acoustique*
Luc FERRARI	*86*	*Toxicologie*
Caroline GAUCHER-DI STASIO	*85/86*	*Chimie physique, Pharmacologie*
Stéphane GIBAUD	*86*	*Pharmacie clinique*
Thierry HUMBERT	*86*	*Chimie organique*
Frédéric JORAND	*87*	*Santé publique*
Olivier JOUBERT	*86*	*Toxicologie*
Francine KEDZIEREWICZ	*85*	*Pharmacie galénique*
Alexandrine LAMBERT	*85*	*Informatique, Biostatistiques*
Faten MERHI-SOUSSI	*87*	*Hématologie*
Christophe MERLIN	*87*	*Microbiologie*
Blandine MOREAU	*86*	*Pharmacognosie*
Maxime MOURER	*86*	*Chimie organique*
Francine PAULUS	*85*	*Informatique*
Christine PERDICAKIS	*86*	*Chimie organique*
Caroline PERRIN-SARRADO	*86*	*Pharmacologie*
Virginie PICHON	*85*	*Biophysique*
Anne SAPIN-MINET	*85*	*Pharmacie galénique*
Marie-Paule SAUDER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Gabriel TROCKLE	*86*	*Pharmacologie*
Marie-Noëlle VAULTIER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Mohamed ZAIOU	*87*	*Biochimie et Biologie moléculaire*
Colette ZINUTTI	*85*	*Pharmacie galénique*

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER	*86*	*Sémiologie*

PROFESSEUR AGREGE

Christophe COCHAUD	*11*	*Anglais*

**Discipline du Conseil National des Universités :*
80ème et 85ème : Sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé
81ème et 86ème : Sciences du médicament et des autres produits de santé
82ème et 87ème : Sciences biologiques, fondamentales et cliniques

32ème : Chimie organique, minérale, industrielle

11ème : Langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes

SERMENT DES APOTHICAIRES

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D' honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

REMERCIEMENTS

A mon Président et Directeur de thèse,

Madame Béatrice Faivre,

Je vous remercie d'avoir accepté de diriger ce travail.
Vous m'avez également fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury.
Veuillez trouver l'expression de ma reconnaissance ainsi que de mon profond respect

A mes juges,

Madame Danièle Bensoussan,

Votre présence au sein de ce jury est un honneur et je vous en remercie.
Soyez assuré de mon profond respect et de ma reconnaissance.

Madame Véronique Latger-Cannard,

Je vous adresse mes profonds remerciements pour votre participation au jury de cette thèse.
Veuillez trouver ici le témoignage de ma gratitude et de mon respect.

Madame Béatrice Demoré,

Je vous adresse mes sincères remerciements pour l'honneur que vous me faites en acceptant de juger ce travail et pour les enseignements que vous nous avez dispensé durant ces années.
Veuillez trouver dans cet ouvrage le témoignage de ma sincère reconnaissance.

A mes parents,

Merci de m'avoir donné l'opportunité et les moyens de faire ces belles études qui se clôturent aujourd'hui avec cette thèse.

Merci de m'avoir guidée et soutenue. Merci pour votre présence si réconfortante, surtout pendant les longues semaines de révision et pour avoir rendu ma vie la plus facile possible toutes ces années.

Merci pour tout ce que vous m'avez inculqué et pour avoir fait de moi ce que je suis aujourd'hui. J'espère que vous êtes fiers de moi.

A Amandine,

Parce que tu es ma grande sœur adorée, la meilleure dont j'aurais pu rêver.

Merci pour le nombre d'heures incalculables de cours de math et de chimie en tout genre que tu m'as donné. Visiblement cela a porté ses fruits ! Merci pour avoir toujours su me motiver et me redonner la pêche quand j'avais des coups de blues. Merci d'être toujours là à mes cotés.

A Grégory,

Merci d'avoir dit un jour « et pharma, ça te plairait pas ? ». Merci de t'être intéressé à mon travail et d'avoir toujours eu un petit mot gentil pour m'encourager ou me féliciter.

A Lise,

Lorsque tu seras assez grande pour lire ceci, tu sauras que grâce à toi j'ai été pendant quelques mois gynécologue, obstétricien, sage femme et pédiatre ! Merci de m'avoir fait réviser sans le savoir.

A ma belle famille, Alain, Monique et Mamie Léonie,

Merci pour l'intérêt que vous avez porté à mon travail et pour les nombreux cierges brulés en période de partiels ! Merci de votre gentillesse.

A ma coloc d'amour, Sarah,

Parce que ces années sans toi auraient été bien tristes.

Merci d'avoir égayé mes journées pendant 6 ans. Merci pour nos fous rires, notre complicité, pour avoir partagé les moments de stress et de joie ensemble et pour notre petite vie de vieux couple que l'on s'était construite et que j'aimais tant. Merci de m'avoir supportée, moi, mes AVC et mes crises d'appendicites à répétitions, mes discours sur la nutrition à chacun de tes repas et le fait que j'égoutte ta soupe !

Heureusement que tu as été là …

A tous mes amis, Sophie & Seb, Antoine, Pac, Plo, Paul, Véro, Hélène & Seb, Mr Müller, Alain,

Merci pour tous les bons moments que l'on a passés ensemble, pour les heures en amphi qui au final me manquent, pour les soirées chez Sophie, au Gps, au billard, pour les casses-croûtes du jeudi au petit miam et tout ce que j'oublie.

Merci à tous pour votre amitié, votre gentillesse, votre solidarité et pour la dernière fois je vous fais gros



A Mr Hayo et à l'équipe de la pharmacie du Chardon,

A Mr Weisse et à l'équipe de la pharmacie de la République,

Merci de m'avoir accueillie pour les stages et pour les mois d'été. Merci pour vos enseignements et vos conseils. Soyez assurés de toute ma reconnaissance.

A Guillaume,

Merci d'avoir passé ces années à mes côtés.

Tu m'as soutenue, épaulée et aidée du mieux que tu pouvais le faire, tu as compris mon emploi du temps un peu serré par moment et tu m'as donné tout l'amour dont j'avais besoin pour aller jusqu'au bout. Si j'en suis là aujourd'hui, c'est aussi grâce à toi.

Tu as été ma plus grande force pour avancer vers ce futur tant rêvé qui est enfin arrivé.

Merci de partager ma vie et de faire mon bonheur au quotidien. Je t'aime plus que tout.

Table des matières

INTRODUCTION

PARTIE 1 : Généralités sur les cellules souches

A. Définitions 17

A.1. Les cellules souches 17

A.2. Classification des cellules souches 18

- Les cellules souches totipotentes 18
- Les cellules souches pluripotentes 18
- Les cellules souches multipotentes 18
- Les cellules souches unipotentes 19
- Les cellules souches embryonnaires 20
- Les cellules souches fœtales 20
- Les cellules souches adultes 20

B. Les cellules souches adultes 21

B.1. Les cellules souches mésenchymateuses 21

B.2. Les cellules souches hématopoïétiques 25

B.2.1. Historique des découvertes intéressantes 25

B.2.2. Origines des cellules souches hématopoïétiques 28

B.2.2.1. Moelle osseuse 28

B.2.2.2. Sang circulant 29

B.2.2.3. Sang de cordon ombilical 30

C. Localisation, physiologie, caractérisation et potentialité 32

C.1 Niches / Loges hématopoïétiques 32

C.1.1 Niche ostéoblastique 32

C.1.1.1 Les chimiokines 33

C.1.1.2. Molécules d'adhésion 33

C.1.2. Niche vasculaire 34

C.2 Hématopoïèse 36

C.3. Facteurs de croissance hématopoïétique 40

C.4. Caractérisation des CSH 42

PARTIE 2: Les greffes de cellules souches hématopietiques

A. Différents types de greffe _____ 45

A.1.Greffe autologue 45

A.1.1. Définition 45

A.1.2. Indications 46

A.1.3. Avantages et inconvénients des autogreffes de CSH 49

A.2.Greffe allogénique 50

A.2.1. Définition 50

A.2.2. Indications 54

A.2.3. Avantages et inconvénients des allogreffes de CSH 57

A.3.Greffe syngénique 57

B. Les greffons de cellules souches hématopoïétiques _____ 59

B.1.Greffons issus de la moelle osseuse ou du sang circulant 59

B.1.1. Conditions de prélèvement 59

B.1.1.1. Moelle osseuse 59

B.1.1.2. Cellules souches périphériques 61

- Phase de mobilisation 61
- Phase de recueil 64

B.1.2. Contenu cellulaire des greffons 65

B.1.3.Traitement et conservation des greffons 67

B.1.4.Registres des donneurs de CSH de moelle osseuse et de CSP 69

B.2. Greffons issus de sang de cordon 71

B.2.1. Conditions de prélèvement 71

B.2.2. Contenu cellulaire des greffons de sang de cordon 72

B.2.3.Traitement et conservation des greffons 72

B.2.4. Registres des donneurs de CSH 73

C. Différents protocoles de greffe _____ 77

C.1.Choix du greffon 77

C.1.1. Rappels immunologiques 77

C.1.1.1. Système HLA ou complexe majeur d'histocompatibilité 77

C.1.1.2. Les antigènes mineurs d'histocompatibilité 78

C.1.2. Greffons autologues 78

C.1.3. Greffons allogéniques 79

C.1.3.1. Donneur familial 80

C.1.3.2. Donneur issu des registres. 81

C.2. Conditionnement pré-greffe du receveur et risques associés. 82
C.2.1. Greffe autologue et conditionnement myéloablatif 83
C.2.2. Conditionnement non-myéloablatif 87
C.3. Protocole d'administration du greffon et surveillance clinique 90
C.3.1. Greffe des CSH 90
C.3.2. Traitements associés 91
C.3.2.1. Les médicaments immunosuppresseurs 91
C.3.2.2. Prévention des infections 92
C.3.3. Surveillance et suivi post greffe. 92
D. Efficacité curative des greffes en cas d'hémopathies malignes. _____94
D.1. Résultats des greffes allogéniques 94
D.2. Résultats des greffes autologues 96
D.3. Qualité de vie après la greffe 96
E. Réactions post-greffes et prise en charge _____97
E.1. Réaction du greffon contre l'hôte (GvH) 97
E.1.1. GVH aiguë 98
E.1.2. Signes cliniques de la GvH aigue 98
E.1.3. GvH chronique 100
E.1.4. Signes cliniques de la GvH chronique 100
E.1.5. Classification et grade de sévérité de la GvH aigue 101
E.1.6. Prévention et traitement des GvH 103
E.1.6.1. Prévention 103
E.1.6.2. Traitement curatif de la GvH aiguë 103
E.1.6.3. Traitement curatif de la GvH chronique 104
E.2. La réaction du greffon contre la leucémie (GvL) 104
E.3. Complications post greffe 105
E.3.1.Infections 105
- J0 à J+30 post-greffe 105
- J+30 à J+100 post-greffe 106
- >J+100 post-greffe 106

E.3.2. Complications à court terme 109
E.3.2.1.Rejet du greffon 109
E.3.2.2. Effets indésirables des traitements myéloablatifs 110
E.3.2.3. Manifestation neuropsychiatriques (MNP) 111

E.3.3. Complications à long terme 111
E.3.3.1. Dysfonctionnement d'organe 111
E.3.3.2. Stérilité 112
E.3.3.3. Retard de croissance 113
E.3.3.4. Retard intellectuel 113
E.3.3.5. Complications malignes 113

PARTIE 3: Banques de sang de cordon et rôle du pharmacien d'officine

A. Banques de CSH _____ 116

B. Aspect bioéthiques des cellules souches _____ 118

C. Rôle du pharmacien d'officine _____ 118

CONCLUSION

TABLE DES ILLUSTRATIONS

BIBLIOGRAPHIE

Liste des abréviations

CSH : cellules souches hématopoïétiques

CS : cellules souches

CSM : cellules souches mésenchymateuses

MO : moelle osseuse

CSe : cellules souches embryonnaires

CSf : cellules souches fœtales

CSa : cellules souches adultes

G-CSF: granulocyte colony stimulating factor

FCH : facteurs de croissance hématopoïétiques

CSP : cellules souches périphériques

LAM : leucémie aigue myéloïde

LAL : leucémie aigue lymphoïde

LMC : leucémie myéloïde chronique

LLC : leucémie lymphoide chronique

CMH : complexe majeur d'histocompatibilité

GVH : greffon versus hôte

GVL : greffon versus leucémie

DLI : injections des lymphocytes du donneur

FCI : facteurs de croissances hématopoïétiques

HLA : Human leukocyte antigens

CFU-L: colony forming unit – lymphoid

GFU-GEMM: colony forming unit – granuleuse, érythrocytaire, macrophage et mégacaryocytaire.

EPO: érythropoïétine

HSC: hematopoietic stem cell

SCF: stem cell factor

BMDW: bone marrow donors worldwide

MTX: méthotrexate

MNP: manifestation neuropsychiatriques

Introduction

Dès leur découverte au début du XX^{ème} siècle, les cellules souches hématopoïétiques ont suscité un très vif intérêt de la part de la communauté scientifique. Leur capacité de différenciation et d'autorenouvellement, totalement inédite, en ont rapidement fait les cellules de tous les espoirs.
De très nombreuses équipes en Europe et aux Etats Unis ont travaillé sur la caractérisation, la localisation et l'utilisation des CSH, mettant ainsi en lumière d'immenses perspectives thérapeutiques. Grâce aux progrès de l'immunologie, la greffe de moelle osseuse, puis la greffe de CSH s'est imposée comme un traitement très efficace, en complément de la chimiothérapie, dans le cas des hémopathies malignes et non malignes ainsi que pour les déficits immunitaires, les aplasies médullaires …

Ce travail consiste en un tour d'horizon des connaissances acquises au fil des années au sujet des CSH.

Nous allons rappeler dans une première partie ce que sont les cellules souches puis, plus précisément, les rôles et les localisations des CSH.

Dans une seconde partie, nous aborderons les greffes de CSH en développant les différents types de greffe ainsi que les indications. Nous verrons également les aspects immunologiques des greffes de CSH ainsi que leurs complications. Enfin, nous verrons en détails le protocole, du choix du donneur jusqu'au recouvrement de l'immunité par le receveur et son suivi après la greffe.

Dans la troisième partie, nous nous intéresserons aux banques de sang de cordon et à leur statut en France, en Europe et dans le monde. Pour terminer, nous verrons le rôle que le pharmacien d'officine peut jouer vis-à-vis des greffes de CSH.

PARTIE 1

Généralités sur les cellules souches

A. Définitions

A.1. Les cellules souches

Deux capacités essentielles définissent les cellules souches et permettent de les distinguer des autres cellules. (cf. figure 1)

- La capacité de ***différenciation*** : dans certaines conditions physiologiques ou expérimentales, les cellules souches sont capables de se différencier en cellule spécialisées.
- La capacité d'***auto-renouvellement*** : les cellules souches sont des cellules non spécialisées qui se renouvellent par division cellulaire pendant de longues périodes. (1;2)

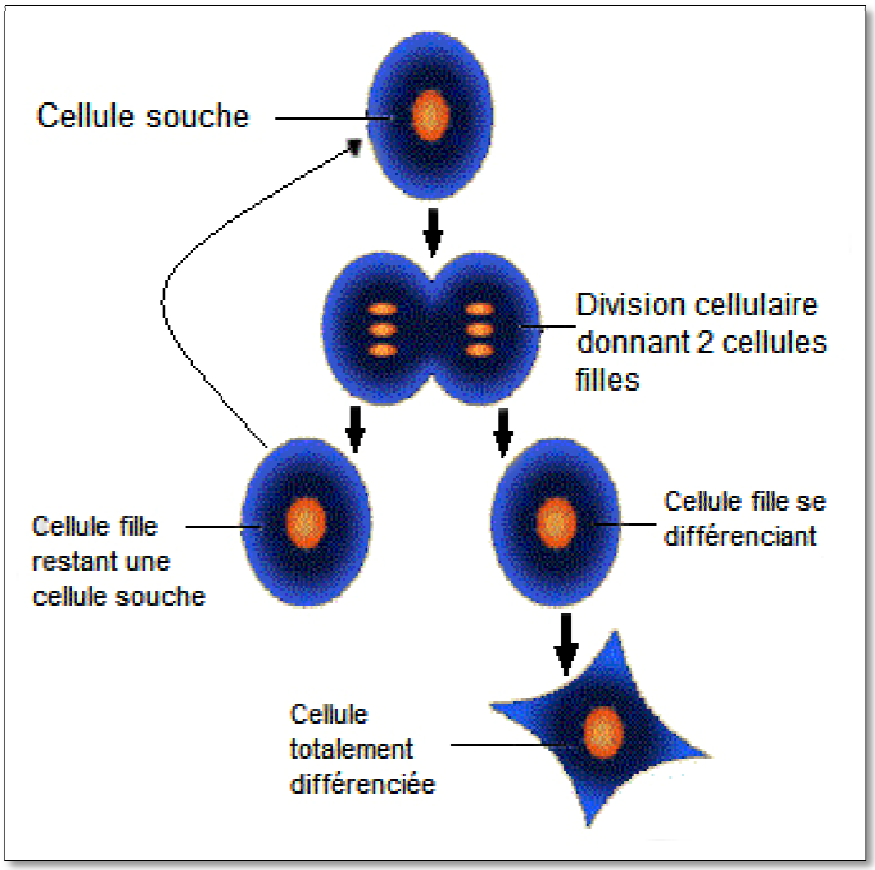


Figure 1 : Capacité d'une cellule souche (2)

A.2. Classification des cellules souches

En ce qui concerne les cellules souches, on en distingue plusieurs types en fonction de leur capacité de différenciation : (cf. figure 2)

- Les cellules souches totipotentes : ce sont des cellules souches capables de former tous les types cellulaires et de ce fait peuvent former un organisme entier multicellulaire. Ce sont des cellules qui se retrouvent dans les ovocytes fécondés jusqu'au quatrième jour (stade morula de 2 à 8 cellules).

- Les cellules souches pluripotentes : Les CS pluripotentes peuvent conduire, par différenciation, à l'ensemble des tissus issus des trois feuillets embryonnaires (endoderme, mésoderme et ectoderme) mais ne permettent pas de conduire aux annexes embryonnaires. *In vivo*, on trouve différents types de CS pluripotentes selon l'âge de l'organisme ou de l'individu. Par exemple, chez l'embryon de 5-7 jours, les CS pluripotentes correspondent aux cellules de l'épiblaste, localisées au cœur de la masse cellulaire interne du blastocyste (jours 5½ à 7½ après fécondation chez l'Homme) et sont appelées cellules souches embryonnaires.

- Les cellules souches multipotentes : Les CS multipotentes ont un potentiel de différenciation plus réduit que les CS pluripotentes mais sont tout de même capables de conduire à au moins quatre types cellulaires tout en étant déjà engagées dans un programme de différenciation tissulaire spécifique. Ces cellules sont présentes chez le fœtus (≈ 6 semaines) ainsi que chez l'adulte.

Parmi les CS multipotentes, on trouve par exemple les CS hématopoïétiques qui peuvent conduire aux différentes cellules du sang (globules rouges, plaquettes, granulocytes, lymphocytes T ou B, monocytes), les cellules de la crête neurale qui peuvent notamment se différencier en mélanocytes, en neurones et en cellules gliales du système nerveux périphérique, les CSM qui peuvent conduire à des adipocytes, des ostéoblastes, des chondrocytes, des cellules musculaires lisses ainsi qu'à des cellules endothéliales.

➢ Les cellules souches unipotentes : les CS unipotentes ne peuvent conduire qu'à un seul type cellulaire. Les myoblastes myosatellites, les adipoblastes, les cellules chondrogéniques du périchondre et les cellules ostéogéniques du périoste, les cellules de l'épithélium basal de la muqueuse gastro-intestinale ainsi que certains progéniteurs neuronaux sont des CS unipotentes.
(3;4;5)

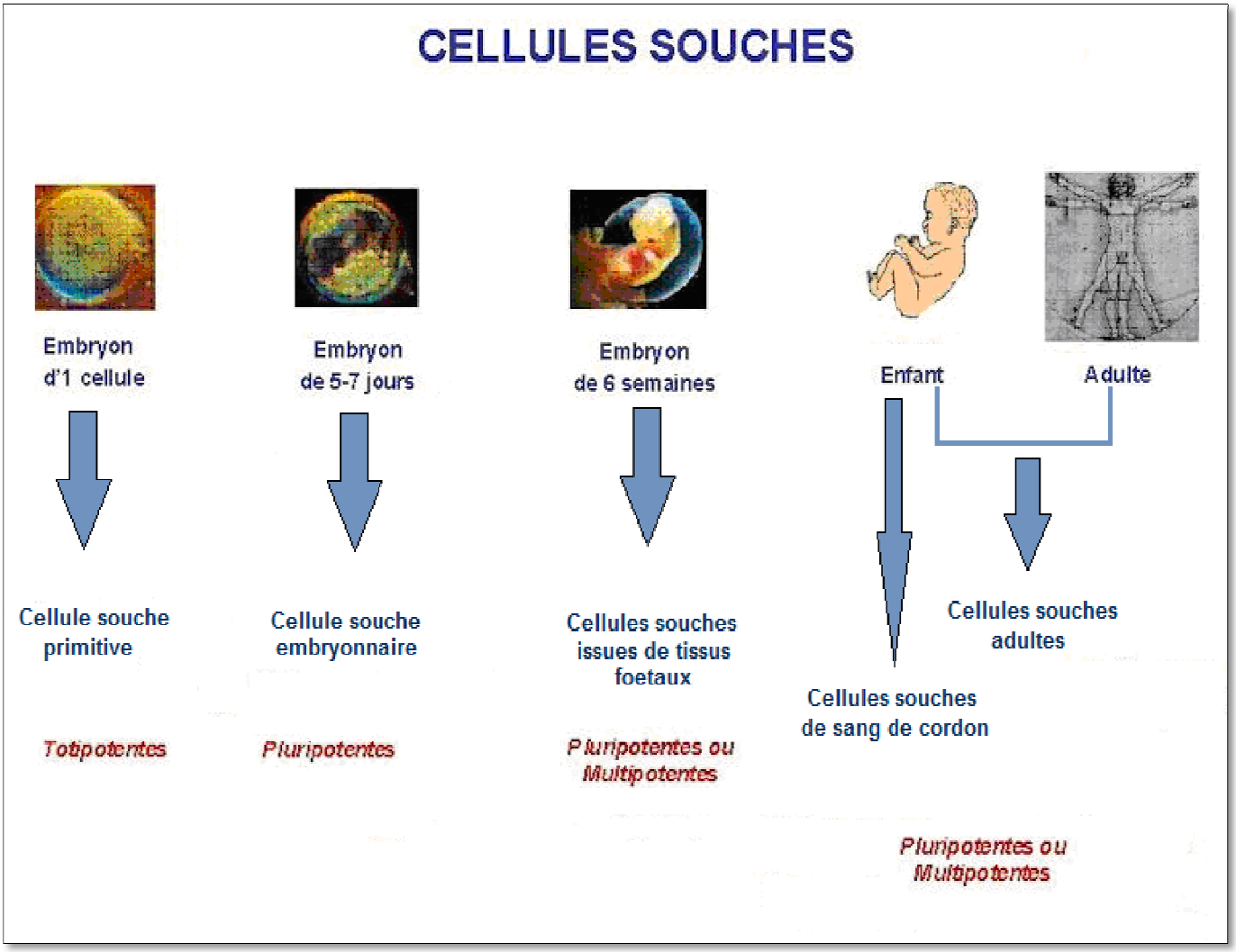


Figure 2 : Caractéristiques des cellules souches en fonction du stade de la vie. (5)

Un autre type de classification des cellules souches se base sur leur localisation physiologique et le stade de développement de l'individu. On peut ainsi identifier 3 grands types de cellules souches. (1)

➢ Les cellules souches embryonnaires (CSe) : ce sont des cellules pluripotentes situées dans la masse cellulaire interne de l'ovocyte fécondé au stade blastocyste 16-40 cellules (entre 5 à 7 jours de développement chez l'homme). Même si, à l'heure actuelle, on ne peut, pour des raisons éthiques et scientifiques, envisager d'utiliser ces cellules en clinique, elles représentent un modèle essentiel et unique dans l'étude de la médecine régénératrice et un grand espoir pour de futures thérapies cellulaires. Les CSe utilisées en recherche sont extraites d'ovocytes fécondés lors de FIV lorsqu'ils ne sont pas de qualité suffisante pour être réimplanté ou bien s'ils ne font plus l'objet d'un projet parental. L'obtention de CSe, via la création d'embryon par clonage thérapeutique ou par FIV, avec pour seul objectif la recherche, est interdite à l'heure actuelle en France. (6)

➢ Les cellules souches fœtales (CSf) : ces cellules, multipotentes, se retrouvent dans les tissus fœtaux à des stades plus avancés (≈ 5-9 semaines). Les CSf sont de deux types : somatiques et germinales.

- *Les CSf germinales* formeront les gamètes, spermatozoïdes et ovocytes pour l'Humain. Elles seront le point de départ de tout embryon et elles permettent de transmettre au cours de la reproduction sexuée les mutations génétiques qu'elles pourront acquérir.
- *Les CSf somatiques* formeront toutes les autres cellules de l'organisme, à l'exception donc des gamètes. Elles représentent l'immense majorité des cellules constituant un individu et ne seront impliquées dans aucune transmission d'information génétique.

➢ Les cellules souches adultes (CSa) : ces cellules se retrouvent dans les tissus adultes humains où elles participent au maintien d'un organe ou d'un tissu dans un état physiologique. Cela se fait grâce à leur capacité d'une part à se multiplier à l'identique (afin de renouveler les cellules sans épuiser le réservoir de cellules souches) et d'autre part à se différencier pour acquérir les caractéristiques du tissu à réparer. Des CS répondant à cette définition et donc considérées comme CSa, ont été identifiées avec certitude. Elles sont multipotentes.

→ **Ce sont les CSH et les CSM**

B. Les cellules souches adultes

Il existe deux types de cellules souches adultes : les CSM et les CSH.

B.1. Les cellules souches mésenchymateuses

Les cellules souches mésenchymateuses (CSM) sont des cellules souches tissulaires, adultes, multipotentes à l'origine des lignages ostéoblastiques, chondroblastiques, adipocytaires, stromales et tendinoblastiques. De façon plus contestée, elles donneraient également naissance aux cellules musculaires striées squelettiques et cardiaques voire à des cellules d'origine non mésodermique, tels les hépatocytes ou les cellules neurales. (cf. figure 3)

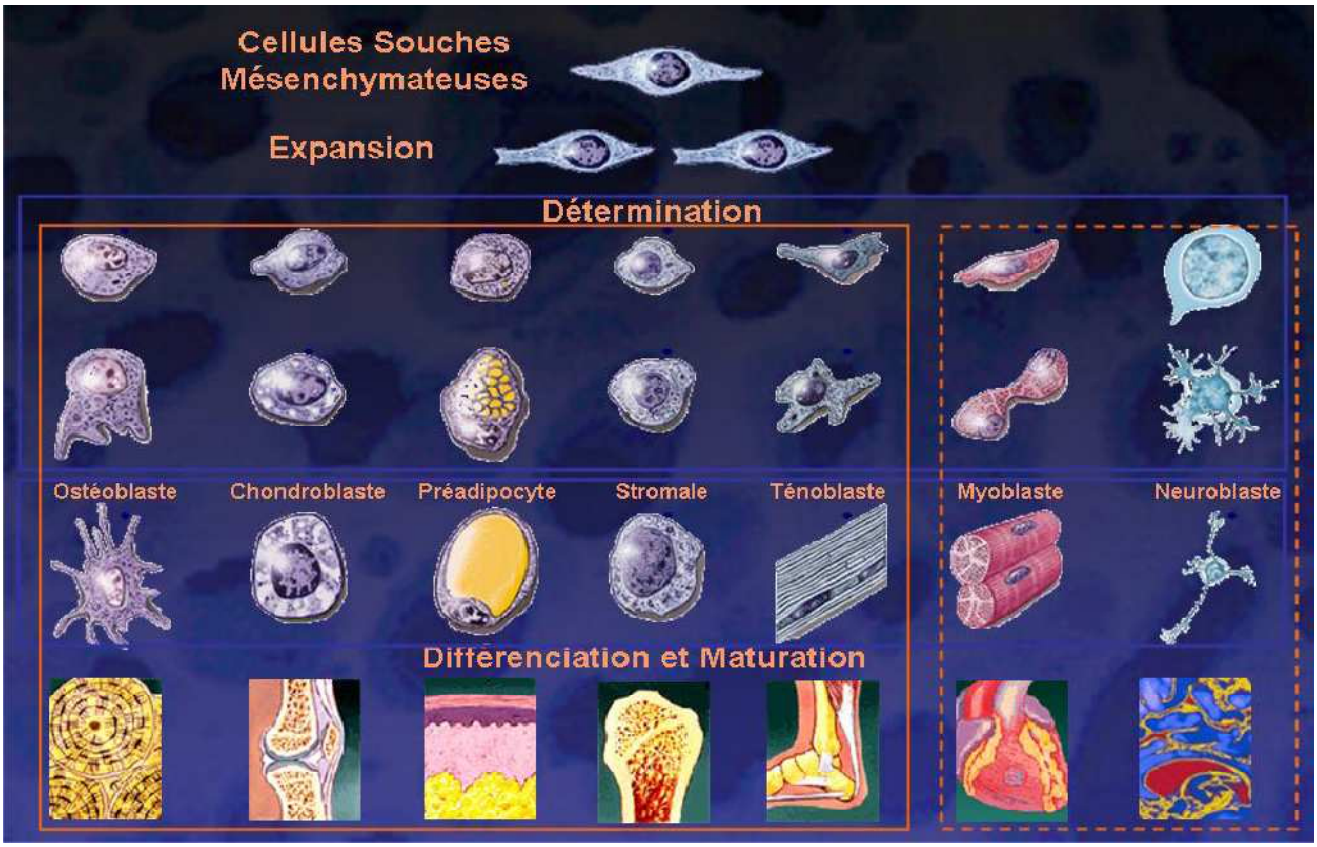


Figure 3 : Mésengenèse (7)

Elles se nichent principalement dans la moelle osseuse mais on peut également les retrouver en très faible proportion dans le tissu adipeux, le tissu osseux, le sang placentaire et le liquide amniotique. (4)

De plus, il a été démontré que les CSM peuvent circuler dans le sang périphérique et même que leur nombre augmente après une fracture osseuse et chez les patients atteints de cancer. (cf. figure 4)

Cela suggère que la MO sert de réservoir pour les CSM qui seraient capables d'être mobilisées et acheminées par voie sanguine vers les zones lésées pour participer à la réparation tissulaire. (8)

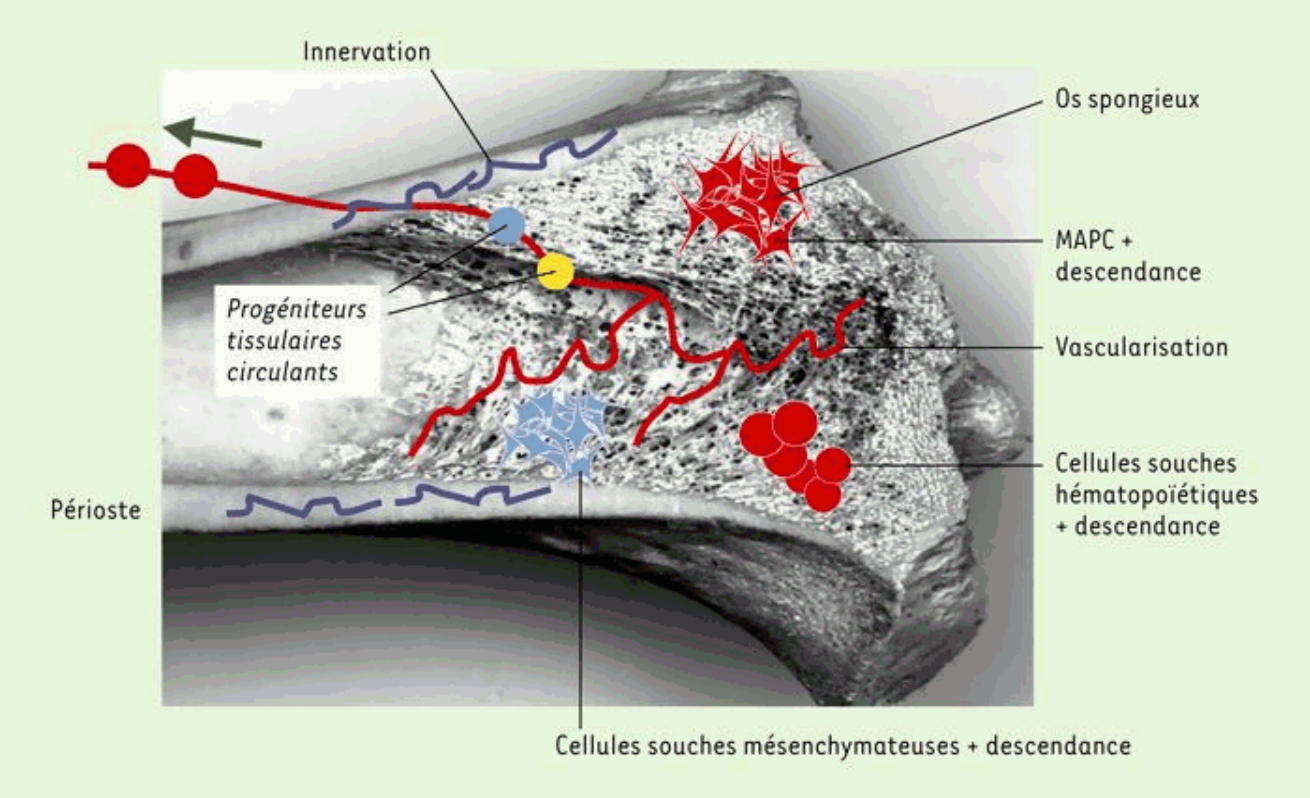


Figure 4 : Localisation et mouvement des CSM et CSH dans l'os (9)

MAPC : Multipotent Adult Progenitor cells (cellule progénitrice multipotente adulte)

On observe les amas de CSH et de CSM au niveau de l'os spongieux. Les vaisseaux sanguins forment un réseau autour des cellules souches afin de permettre leur passage dans la circulation.

Bien que les CSM et CSH présentent de nombreuses similitudes et une certaine complémentarité, ce sont deux types cellulaires complètement distincts. Pour preuve de leur identité propre, les CSM possèdent un ensemble de marqueurs de surface qui les caractérise et qui permettent leur isolement. Ces cellules sont :
CD34-, CD45-, HLA-DR-, CD80-, CD86-, CD40-, CD31-, CD44+, CD106+, CD49e+, CMHI+, CD90+, SH2+, SH3+, Stro1+
(32)
Il est important de s'intéresser ici aux CSM car elles ont un rôle important de soutien de l'hématopoïèse et des propriétés immunosuppressives et peu immunogènes.

- Les CSM produisent de façon constitutive ou inductible de nombreuses interleukines et facteurs de croissance de l'hématopoïèse, ainsi que des facteurs chemo-attractants pour les cellules souches hématopoïétiques. Leur rôle est essentiel dans la régulation, la production et donc le soutien du tissu hématopoïétique.

- Les CSM modulent les réactions immunitaire et n'induisent pas de prolifération lymphocytaire T mais sont capables d'inhiber une MLR (Mixed Lymphocyte Reaction) et d'induire une tolérance. Les antigènes HLA de classe I s'expriment faiblement et les antigènes de classe II ainsi que certaines molécules de co-stimulation et le Fas ligand ne sont pas exprimés du tout. Enfin il existe vraisemblablement un facteur inhibiteur soluble produit par les CSM responsable en partie de l'induction d'une tolérance.

Grâce à ces deux propriétés, les CSM sont utilisables dans les greffes de CSH autologues et allogéniques. En clinique, les CSM combinées à une greffe de CSH réduisent la durée d'aplasie post-greffe en accélérant la reconstitution hématopoïétique. Cela permet également de réduire le risque d'échec de greffe et de réaction aiguë du greffon contre l'hôte dans les allogreffes. En pratique, cela correspond à la greffe de la MO dans son intégralité.
(cf. figure5)
(10)

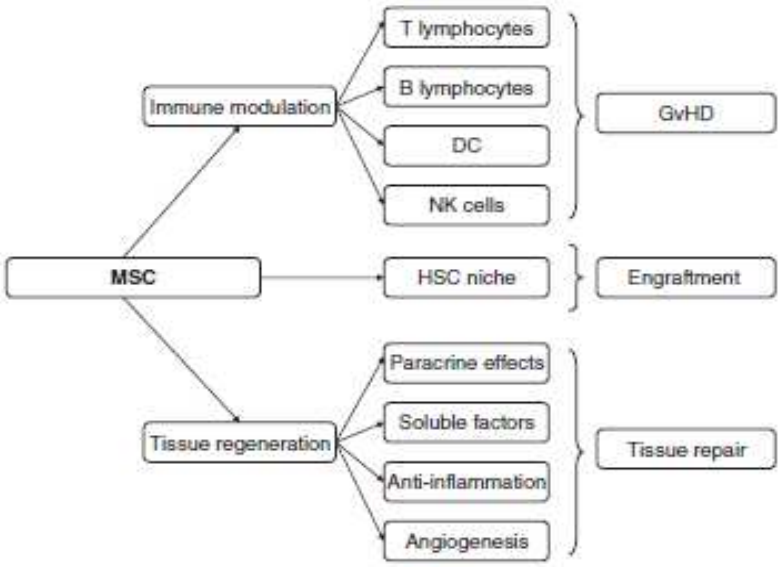


Figure 5 : Mécanismes d'action et rôle des CSM lors d'une greffe de CSH. (10)

DC : dentritic cell / cellules dendritiques

MSC : mesenchymal stem cells / cellules souches mésenchymateuses

HSC : hematopoietic stem cells / cellules souches hématopoïétiques

GvHD : graft-versus-host disease / maladie du greffon contre l'hôte

D'autre par, le caractère multipotent des CSM ouvre la voie au domaine de la réparation tissulaire, en orthopédie pour la reconstruction osseuse et cartilagineuse, en chirurgie plastique reconstructive pour le tissu adipocytaire, en cardiologie pour la réparation du tissu musculaire myocardique après un infarctus, en neurologie pour la réparation de tissu cérébral après une ischémie cérébrale. Les modèles murins ont montré la faisabilité de ces applications. Il est également concevable que les CSM allogéniques peuvent aider à la reconstruction d'un microenvironnement défectueux.

De leurs propriétés multipotentes dérive une nouvelle technique : l'ingénierie cellulaire et tissulaire, qui consiste à utiliser les CSM isolées de moelle osseuse, de tissus adipeux ou de cordon ombilical comme produits thérapeutiques pour la médecine régénératrice. Cette nouvelle technique est en cours de développement.

Enfin, de nombreuses études *in vitro* et *in vivo* dans des modèles animaux ont montré que les CSM peuvent être utilisés comme cellules vectrices d'un transgène d'intérêt thérapeutique. De ce fait, il est probable que dans les années à venir, l'usage thérapeutique des CSM, non seulement en hématologie mais aussi dans les autres disciplines médicales, puisse s'étendre de façon extraordinaire. (4;7;8;10;11;12;13)

B.2. Les cellules souches hématopoïétiques.

B.2.1. Historique des découvertes intéressantes (3;14)

1908 : Le scientifique russe *Alexander Maksimov* (1874-1928) propose pour la première fois lors du congrès de la société hématologique de Berlin le terme de « cellules souches ». Il émet l'hypothèse de l'existence de cellules souches hématopoïétiques.

1958 : le Dr Jean Dausset découvre le complexe majeur d'histocompatibilité et décrit pour la première fois le système HLA.

1959 : Premiers essais cliniques qui démontrent la faisabilité d'une prise de greffe de moelle osseuse allogénique. D'abord en France par le Dr Georges Mathé puis aux Etats-Unis par le Dr *Edward Donnall Thomas*.

1961 : Le *Dr Ernest McCulloch* et le *Dr James Till* confirment l'existence de cellules souches hématopoïétiques. En 1963, ils mettent en évidence des cellules auto-renouvelables dans la moelle osseuse de souris.

1968 : Première guérison du syndrome d'immunodéficience sévère grâce à une greffe de moelle osseuse allogénique entre deux frères réalisée par le *Dr Robert Good*.

1974 : Des cellules souches hématopoïétiques sont découvertes dans le sang du cordon ombilical. (15)

1970-1980 : Mise au point et optimisation des techniques de conservation par congélation des CSH grâce aux progrès de la cryobiologie.
En **1978**, les premières greffes de moelle cryoconservée effectuées par le *Dr Frederick R. Appelbaum* dans le traitement de lymphomes sont de réels succès. (14)
En **1979** est réalisée la première greffe non HLA identique à Seattle.
En **1987**, la première greffe de cellules souches du sang de cordon a été effectuée par le Pr Eliane Gluckman chez un enfant atteint d'une maladie de Fanconi, avec comme résultat une reconstitution complète de son hématopoïèse.

1980-1990 : Durant cette décennie, le concept de greffe de moelle osseuse évolue pour devenir greffe de cellules souches hématopoïétiques. En 1984, la découverte de l'antigène

CD34 à la surface des CSH permet de mieux contrôler la qualité des greffons prélevés. Les nouvelles sources de CSH que représentent le sang périphérique et le sang de cordon ombilical sont de plus en plus étudiées et utilisées. Elles permettent de développer les greffes de CSH sanguines et améliorent la rapidité et la qualité de la reconstitution hématologique.

1993-1994 : Premières greffes de sang placentaires non apparentés réalisées par *le Pr Joanne Kurtzberg* et le *Dr John Wagner*.

2000 : Début des débats sur la plasticité des CSH. Le *Dr Eva Mezey* publie des données expérimentales montrant la migration au niveau du cerveau de CSH médullaires greffées et exprimant des caractéristiques spécifiques de neurones. D'autres études montrent la capacité des CSH à se différencier en cellules hépatiques, cutanées, rénales, musculaires, pulmonaires et pancréatiques. Ces débats sont toujours d'actualité. (3)

2001 : 1ère lignées de cellules souches embryonnaires murines obtenues à partir d'un transfert nucléaire (« clonage thérapeutique »).

2003 : Le Dr. Songtao Shi découvre une nouvelle source de cellules souches adultes dans les dents de lait d'enfants.

2004-2005 : Imposture du généticien sud-coréen Hwang Woo-Suk. Après avoir annoncé le premier cas de clonage à partir d'oocytes humains non-fécondés, il se rétracte et finit par avouer l'imposture. Les enquêtes ultérieures montreront qu'il s'agissait d'un phénomène de parthénogénèse et non de clonage.

2006 : Obtention de cellules pluripotentes à partir de cellules somatiques chez la souris : les cellules souches pluripotentes induites (iPS).
Les iPS sont des cellules qui possèdent les caractères des cellules souches embryonnaires et qui sont obtenues à partir de cellules adultes via un transfert de gènes. Elles sont très utilisées par les chercheurs puisqu'elles permettent de s'affranchir des limitations bioéthiques liées à l'utilisation des cellules souches embryonnaires.

2007 : Obtention d'iPS chez l'homme.

En résumé

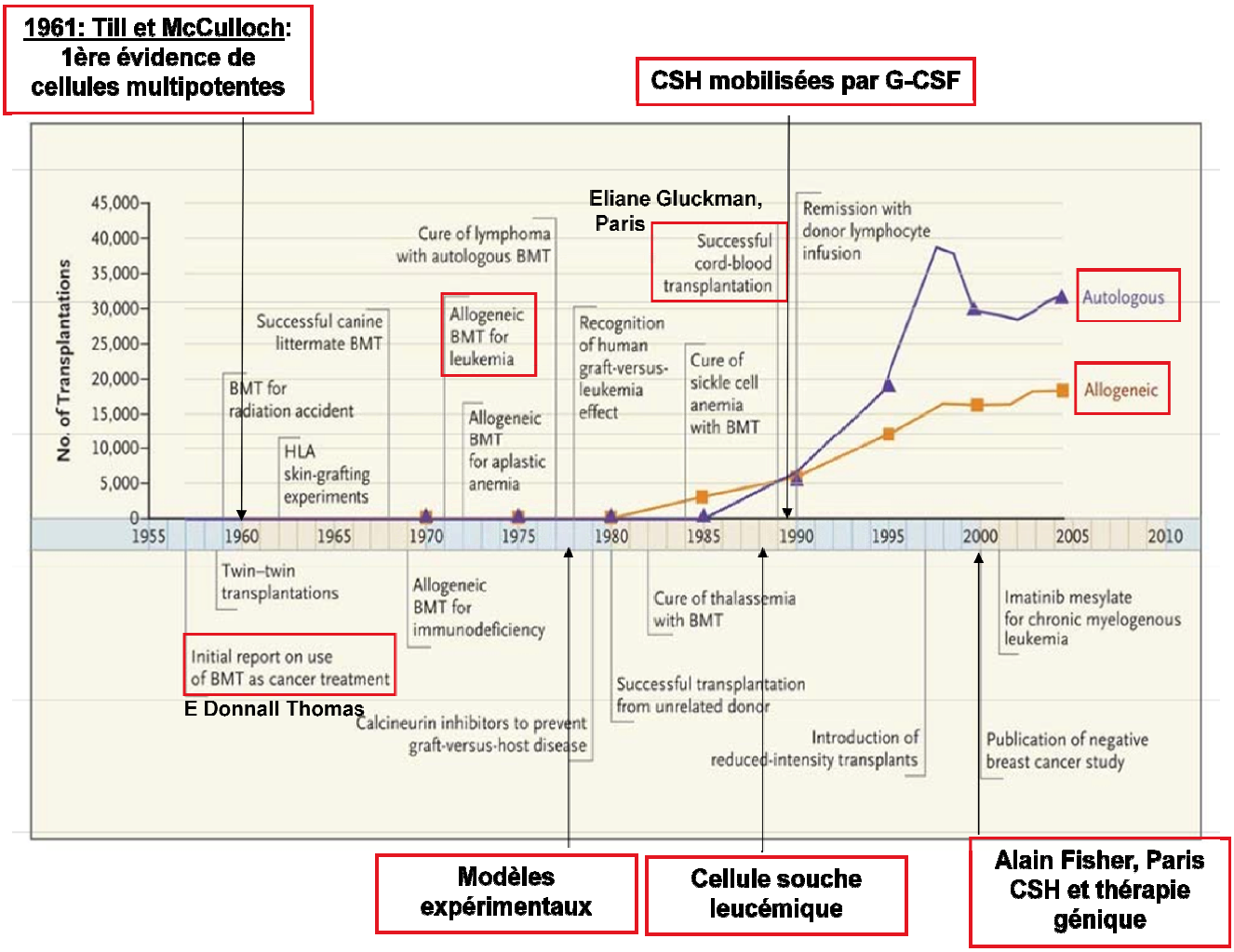


Figure 6 : Grandes dates de la recherche sur les CSH. (16)

HLA : Human leukocyte antigen / antigènes des leucocytes humains

BMT : Bone marrow transplantation / greffe de moelle osseuse

B.2.2. Origines des cellules souches hématopoïétiques

On sait aujourd'hui qu'il existe une cellule unique à l'origine des cellules souches hématopoïétiques et endothéliales : l'hémangioblaste.

L'hémangioblaste est à l'origine de toute l'hématopoïèse mais aussi à l'origine de l'endothélium vasculaire, ce qui fait de lui le précurseur direct des CSH et CSM. (cf. figure 7)

C'est au cours de la troisième semaine de vie embryonnaire dans le sac vitellin que vont se former les hémangioblastes, dérivant directement des cellules du mésoderme embryonnaire. Ils vont maturer et augmenter en nombre pour devenir des CSH et CSM tels que nous les connaissons. (17;18)

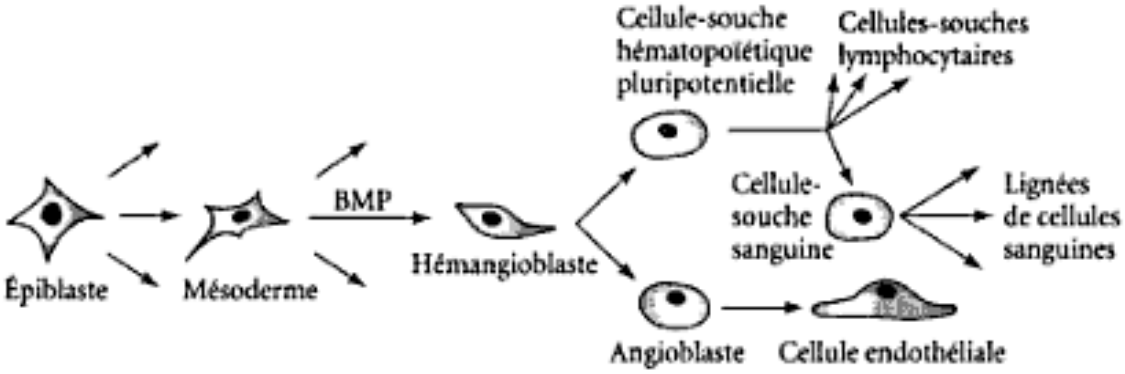


Figure 7 : Origine et destinée des hémangioblastes (18)

B.2.2.1. Moelle osseuse

La moelle osseuse a été la première source de CSH découverte et utilisée pour les greffes allogéniques et autogéniques depuis les années 1970. Elle est prélevée le plus souvent au niveau des crêtes iliaques ou quelques fois au niveau du sternum. Dans la moelle osseuse, environ 1 cellule sur 100 000 est une CSH. Il est possible de prélever entre 600mL et 1L de moelle osseuse en fonction du poids du donneur (maximum 10-20mL/kg de poids corporel du donneur avec $2\text{-}3x10^8$ cellules nucléés/ kg). Le plus souvent, la quantité de CSH isolées est suffisante pour permettre la greffe et, l'expérience et le recul accumulé sur cette technique depuis 4 décennies, donnent une marge de sécurité importante dans l'utilisation des CSH

issues de la moelle osseuse. L'inconvénient principal de cette méthode est le recueil de moelle osseuse qui est douloureux et nécessite une anesthésie générale du donneur. De plus, le greffon ainsi obtenu contient relativement peu de lymphocytes T ce qui réduit l'incidence des GvH mais augmente le temps de prise de la greffe et le risque de rejet. Ceci explique que son utilisation à tendance à stagner depuis ces dernières années. (cf. figure 8 et 24)
La moelle osseuse est la seule source de CSH légalement utilisable pour les mineurs. (3;19;20) (17;19;21;22)

B.2.2.2. Sang circulant

Le sang périphérique renferme des CSH appelées cellules souches périphériques (CSP) mais en quantité très insuffisante pour être utilisées telles quelles en thérapeutique. Ces dix dernières années, les chercheurs ont montré qu'il était possible d'augmenter le nombre de CSP dans le sang circulant en mobilisant les CSH de la moelle osseuse pour les faire migrer vers la circulation sanguine. Cela est rendu possible par l'injection de facteurs de croissance hématopoïétiques tels que, en France le G-CSF (granulocyte colony stimlating factor ; facteur de croissance de la lignée blanche) (Neupogen®, Granocyte®, Neulasta®). L'injection se fait quelques jours avant la récolte des cellules et permet de recueillir jusqu'à 2 fois plus de CSP que dans la moelle osseuse. Cette source était essentiellement utilisée pour des greffes autogéniques, mais depuis quelques années, elles s'utilisent également pour des greffes allogéniques avec une mobilisation par le facteur de croissance seul.
L'intérêt à prélever des CSP est lié au fait que l'on évite une anesthésie générale et que l'on peut recueillir un plus grand nombre de progéniteurs hématopoïétiques.
Un gros inconvénient de cette source est que le greffon contient beaucoup de lymphocytes T ce qui augmente l'incidence et la sévérité de la réaction GvH chroniques (graft versus host). Parallèlement, reconstitution hématologique et immunitaire plus rapide ce qui réduit le temps de prise de la greffe et le nombre de rejet. C'est à l'heure actuelle la source de CSH la plus utilisée en France. (cf. figure 8 et 24)
(19;17;21;22)

B.2.2.3. Sang de cordon ombilical

Les CSH dans le sang de cordon ont été mises en évidence en 1974 par Knutzon. (23)
Les CSH s'y retrouvent en proportion très importante mais il n'est possible de prélever que des volumes assez faibles, de l'ordre de 80 à 200mL. Ce prélèvement ne peut se faire qu'après information et autorisation de la mère. La ponction du sang de cordon est réalisée très facilement en salle d'accouchement sur le cordon ombilical clampé après l'expulsion du bébé. Cette technique est rapide, indolore et sans contrainte pour le donneur. Ces CSH issues du sang de cordon sont utilisées essentiellement pour des greffes allogéniques non apparentées et, dans de très rares cas, pour des greffes familiales (frère ou sœur du malade). Ces greffes sont réalisables grâce aux banques de sang de cordon qui cryoconservent les CSH une fois les typages immunologiques réalisés.
Le grand avantage de cette voie de recueil est que le sang de cordon est un greffon globalement plus tolérant qu'un greffon de moelle osseuse qui serait prélevé chez un enfant ou chez un adulte. Cela permet de transfuser des greffons de sang de cordon qui ne sont pas totalement HLA identiques au patient malade. C'est un grand avantage puisqu'il sera possible de greffer des patients qui n'ont pas de donneurs HLA compatible, ni dans leur fratrie, ni sur les différents registres de volontaires pour le don de CSH.
En revanche, une caractéristique essentielle de ce type de transplantation est que les greffons comportent moins de CSH que pour les autres sources rendant parfois impossible la transplantation à un adulte. C'est pourquoi cette possibilité thérapeutique a été initialement utilisée en pédiatrie chez des enfants, puisque les quantités de CSH nécessaire pour greffer un enfant de 10 kilos est 5 fois inférieure à la quantité de cellules nécessaire pour greffer un grand enfant de 50 kilos.
Les cellules souches de sang de cordon sont plus immatures et pauvres en lymphocytes T réduisant ainsi l'incidence et la sévérité des GVH observables. Cependant, la prise de la greffe est plus lente, et le risque de non-prise de greffe est augmenté. C'est la seconde source de CSH utilisée de nos jours en France. (cf. figure 8 et 24)
(19;21)

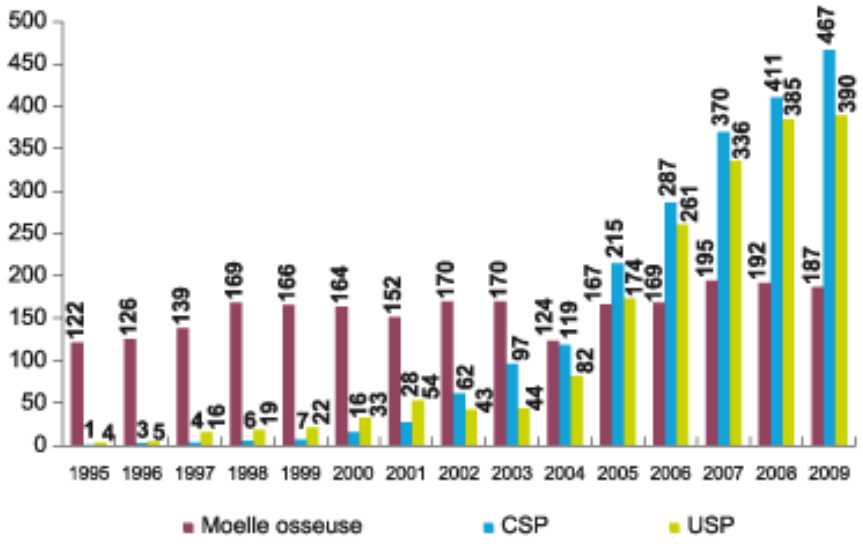


Figure 8 : Evolution des sources des greffons de CSH prélevés en France. (24)

USP : Unité de sang placentaire

CSP : cellules souches issues du sang périphérique

En résumé

Moelle osseuse	Prélèvement sous anesthésie générale Nombre limité de CSH par prélèvement Nombre moyen de cellules CD34+ : $2,8.10^6$/kg de poids du patient Nombre moyen de lymphocytes T : $2,2.10^7$/kg de poids du patient
Sang circulant	Prélèvement plus simple sans nécessité d'anesthésie générale Effets secondaires du G-CSF Nombre important de cellule par prélèvement Nombre moyen de cellules CD34+ : 7.10^6/kg de poids du patient Nombre moyen de lymphocytes T : 27.10^7/kg de poids du patient
Sang de cordon	Prélèvement simple et sans risques Faible risque de transmissions de pathologies Tolère une compatibilité HLA incomplète Nombre de cellules plus faible par prélèvement Nombre moyen de cellules CD34+ : $0,2.10^6$/kg de poids du patient Nombre moyen de lymphocytes T : $0,4.10^7$/kg de poids du patient

Figure 9 : Principales différences entre les 3 origines de CSH. (25)

C. Localisation, physiologie, caractérisation et potentialité

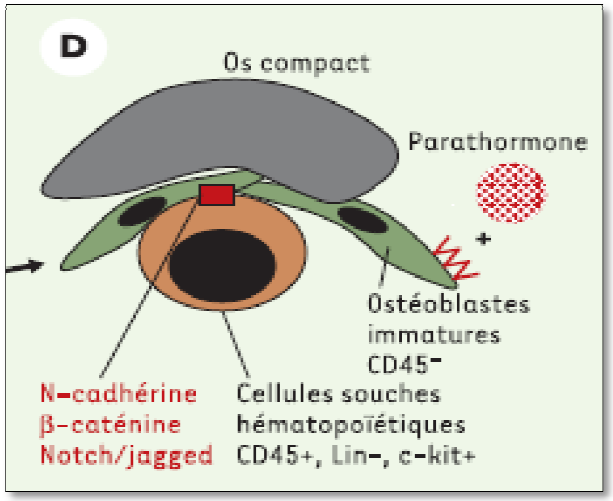
C.1 Niches / Loges hématopoïétiques

Chez tous les êtres vivants, les cellules souches sont localisées dans des microenvironnements cellulaires spécifiques qui les protègent ; c'est ce que l'on appelle des niches ou des loges.
En ce qui concerne les CSH, les études ont montrées qu'elles étaient situées dans deux niches différentes : la niche ostéoblastique située dans la moelle osseuse et la niche vasculaire logée au niveau du sang circulant. Chacune de ces niches a un rôle différent mais complémentaire afin de maintenir l'homéostasie des cellules sanguines. (1;3;26;27)

C.1.1 Niche ostéoblastique

Les cellules souches hématopoïétiques résident dans la partie spongieuse des os longs, au niveau des travées osseuses, à la jonction épiphyse-métaphyse (28). Ces dernières années, les études ont montré que l'ostéoblaste était un élément central de la niche ostéoblastique. L'augmentation du nombre d'ostéoblastes grâce à la parathormone (facteur de croissance des ostéoblastes) ou par blocage du récepteur BMPR-1A (récepteur d'un inhibiteur de la croissance des ostéoblastes) permet d'augmenter très significativement et parallèlement le nombre de CSH présente dans la moelle. Cela démontre donc bien que les ostéoblastes sont en étroite relation avec les CSH et qu'ils influent sur leur nombre. (cf. figure 10) (3)
Cependant, la niche ostéoblastique ne se réduit pas aux seuls ostéoblastes. Le microenvironnement médullaire contient d'autres acteurs indispensables aux CSH comme des chimiokines, des molécules d'adhésion et des facteurs de croissance hématopoïétiques. (26)

Figure 10 : Mécanismes d'adhésion des CSH aux ostéoblastes.
(28)



C.1.1.1 Les chimiokines

Ce sont des protéines qui, pour certaines, induisent la mobilité cellulaire et permettent d'attirer vers le compartiment médullaire les CSP. Si une cellule exprime un récepteur pour une chimiokine X, elle est capable de migrer dans le sens du gradient de chimiokine X le plus élevé (phénomène de homing observé dans les greffes de CSH par voie intraveineuse).

C'est le cas des CSH qui possèdent un récepteur de chimiokine CXCR4 qui reconnaît la chimiokine SDF-1 (stroma derived factor-1). (cf. figure 11).

La chimiokine SDF-1, qui est synthétisée par les ostéoblastes, attire et maintient les CSH dans la moelle osseuse par chimio-attraction. (3;26)

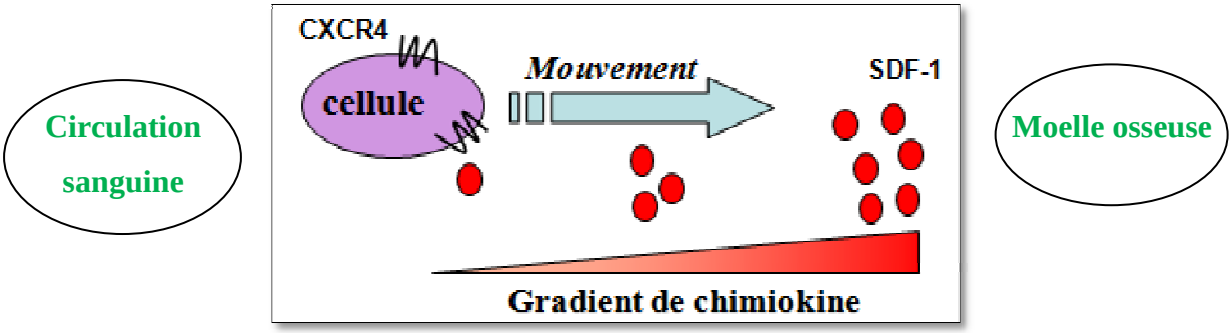


Figure 11 : Mouvement des CSH dans le sens du gradient de chimiokine. (16)

C.1.1.2. Molécules d'adhésion

Les CSH, une fois attirées dans la niche ostéoblastique de la moelle osseuse par la chimiokine SDF-1, adhérent grâce à des molécules d'adhésion aux ostéoblastes. Il existe plusieurs familles de molécules d'adhésion ; les deux plus importantes pour les CSH sont la N-cadhérine et l'intégrine VLA-4. D'autres mécanismes moléculaires jouent également un rôle dans l'adhérence des CSH comme des molécules solubles mettant en jeu la voie JAK-STAT ou encore l'activation d'un récepteur Notch (Notch1 ou-2) présent à la surface des CSH. (1;26)

Ainsi fixées aux intégrines dans la MO, les CSH se stabilisent au stade G0 du cycle cellulaire. Au cours de leur maturation, les CSH vont alors se détacher des ostéoblastes et se diriger vers le centre de l'os, où elles seront emportées par les capillaires sinusoïdes de la moelle et devenir des CSP et constituer la niche vasculaire.

En résumé :

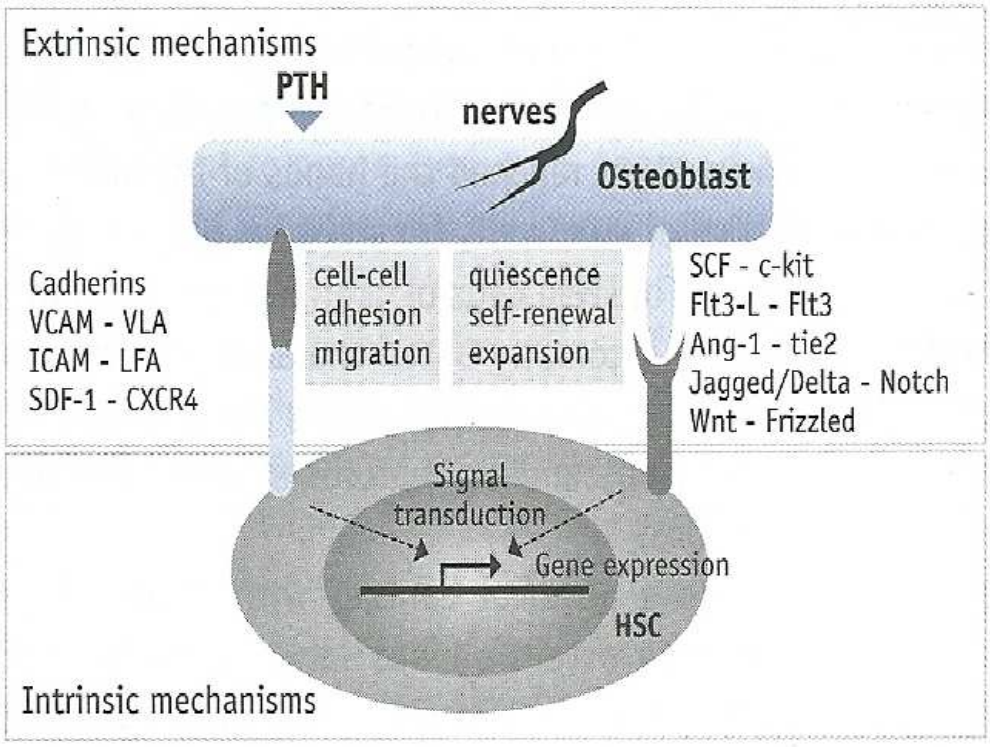


Figure 12 : Les mécanismes de régulation des niches ostéoblastiques de CSH. (29)

PTH : parathyroïde hormone

HSC: hematopoietic stem cell / CSH

On visualise sur cette figure les voies de régulation des CSH dans la niche ostéoblastique par des mécanismes intrinsèques aux CSH (expression des gènes, ...) et par des mécanismes venant du milieu extérieur (action de la PTH,…). On observe également les molécules d'adhésion à gauche et les voies qui participent à la signalisation à droite.

C.1.2. Niche vasculaire

Chez l'adulte, une très petite partie des CSH, environ 0.06%, se retrouvent dans la circulation sanguine où elles sont en liaison avec les cellules endothéliales qui bordent la paroi des vaisseaux sanguins (cf. figure 13). Le rôle précis et les mécanismes de circulation de ces CSH restent méconnus à l'heure actuelle. Elles pourraient refléter la saturation des niches ostéoblastiques. Elles pourraient aussi servir à repeupler partiellement la moelle osseuse en cas de déficience médullaire. Quelle qu'en soit la raison, cette niche vasculaire montre bien qu'il existe des mécanismes dynamiques dans la régulation des CSH. (3)

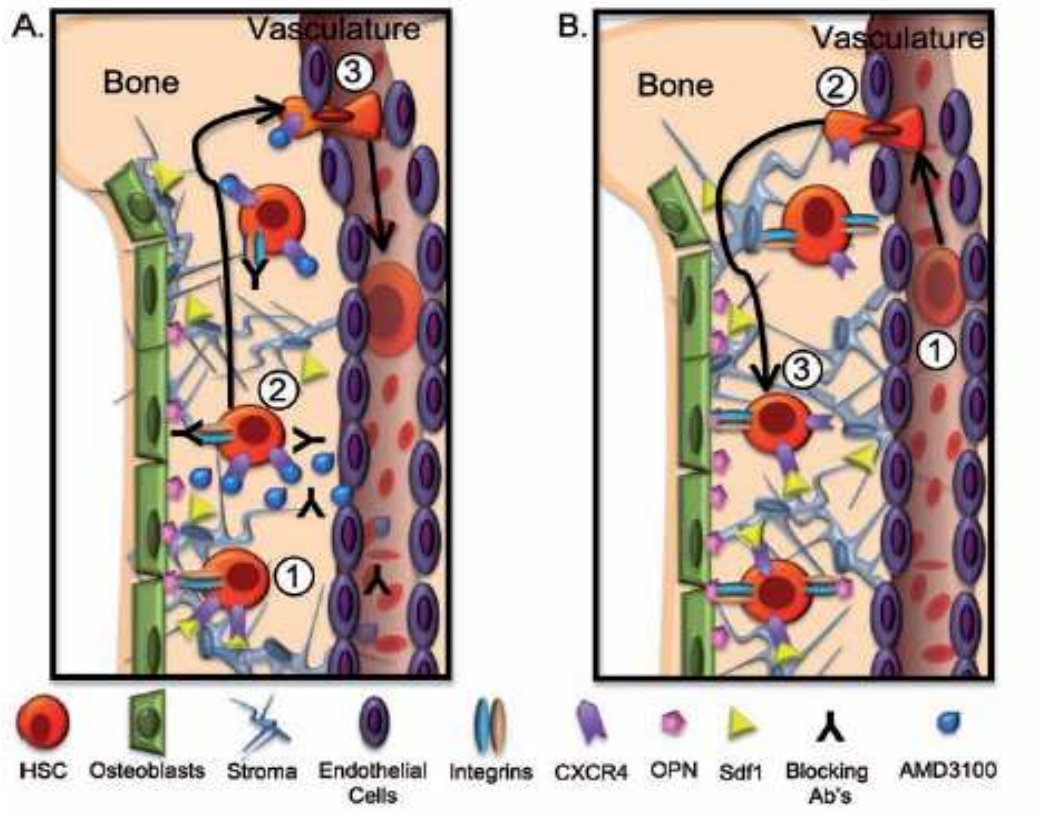


Figure 13 : Mécanismes de régulation et mouvement des CSH dans la niche vasculaire.

(27)

CXCR4 : CXC chemokine receptor, OPN : osteopontin (protéine d'adhérence de l'os reliant l'hydroxyapatite aux cellules osseuses), SDF1 : stromal cell-derived factor-1, Ab : antibody.
AMD3100 : Mozobil® (antagoniste des récepteurs CXCR4).

A. Mobilisation des CSH de la niche osseuse vers la niche vasculaire :
(1) Les CSH sont fixées par interaction avec les ostéoblastes de la niche osseuse. (2) L'addition d'anticorps bloquants ou d'inhibiteurs tels que le Mozobil® peuvent perturber ces interactions et libérer les CSH vers la niche vasculaire. (3)Un stimulus indirect par le granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) et d'autres cytokinespeuvent également diriger les CSH vers le sang circulant
B. Mobilisation des CSH de la niche vasculaire vers la niche osseuse (phénomène de homing) :
(1) Les CSH se déplacent dans le sang circulant. (2) Les CSH de la niche vasculaire pénètrent dans la niche osseuse en traversant la paroi endothéliale des vaisseaux sanguins.(3) Les CSH se placent dans des niches osseuse par l'interaction moléculaire avec de nombreux composants de la moelle osseuse.

Pour résumer, il existe deux niches distinctes capables d'héberger et de réguler l'activité et la biodisponibilité des CSH. La niche ostéoblastique, la plus importante, en étroite liaison avec les ostéoblastes régule l'adhésion et la quiescence des CSH. La niche vasculaire, bien plus petite, servirait de réservoir secondaire de CSH mobilisables très rapidement.

C.2 Hématopoïèse

L'hématopoïèse correspond à l'ensemble des phénomènes de fabrication et de remplacement des cellules sanguines à partir des CSH. Elle se déroule dans les organes hématopoïétiques de façon continue et régulée.

L'hématopoïèse débute dès la période embryonnaire, dans le sac vitellin après 6-8 semaines de gestation, puis dans le foie fœtal, la rate et la moelle osseuse. Chez l'homme adulte, l'hématopoïèse n'a lieu que dans la moelle osseuse mais le foie et la rate conserve un potentiel hématopoïétique (cf. figure 14). Seules les cellules sanguines qui sont matures et fonctionnelles passeront dans le sang. (26;30;31;32)

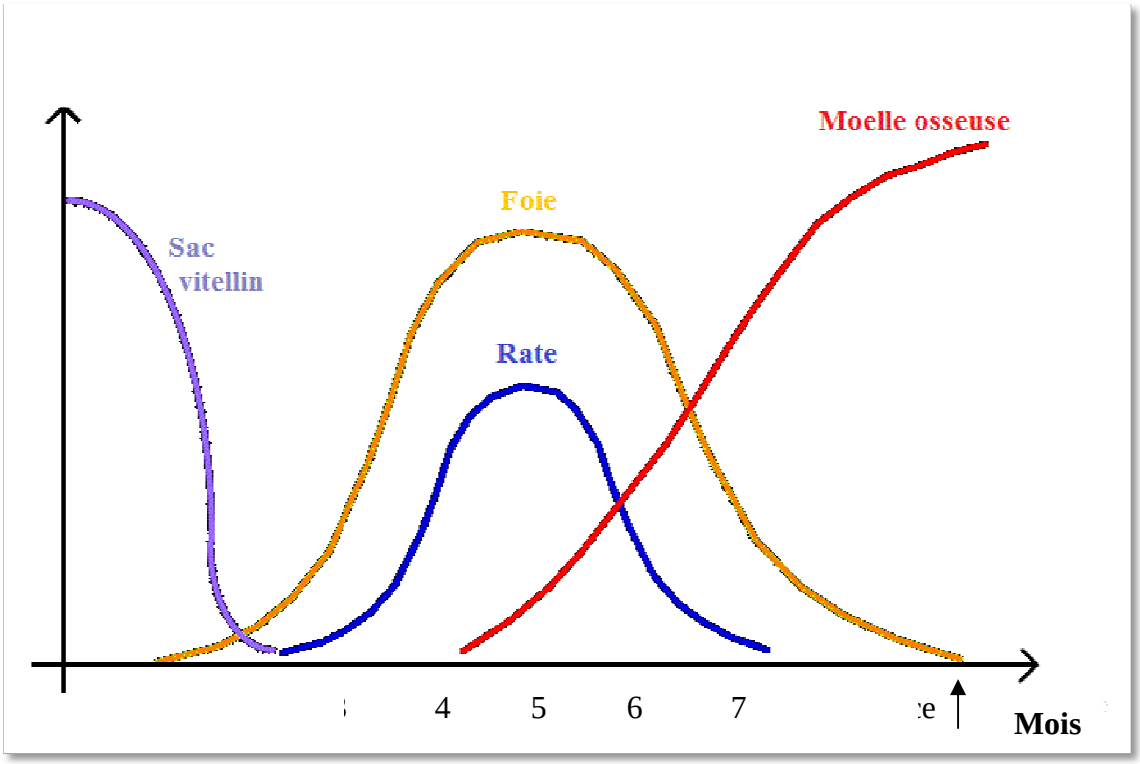


Figure 14 : Localisation de l'hématopoïèse de la fécondation à la naissance. (32)

On constate que durant la vie fœtale, l'hématopoïèse siège en différents organes du fœtus. Au cours du développement, l'activité hématopoïétique de ces organes va décroitre pour ne laisser qu'en grande majorité ce rôle à la moelle osseuse dès la naissance et tout le restant de la vie.

Les cellules sanguines (hématies, polynucléaires, monocytes, lymphocytes et plaquettes), sont en quantité très importante dans le sang. Elles sont très différenciées et ont des durées de vie très variables et relativement courtes. (cf. figure 15)

L'hématopoïèse doit donc assurer chaque jour une production quantitativement très importante d'environ 10^{13} cellules sanguines soit, par exemple, 2 millions d'hématies par seconde.

	Nombre dans le sang	**Durée de vie**	**Production par jour**	**Fonction**
Hématies	20.10^{12}	120 j	200.10^{9}	Transport O_2/CO_2
Polynucléaires neutrophiles	$0{,}5.10^{12}$	24 h	50.10^{9}	Phagocytose, bactéricide
Plaquettes	1.10^{12}	7j	100.10^{9}	Hémostase

Figure 15 : Caractéristiques des cellules sanguines circulantes. (26;32)

On constate que les caractéristiques des cellules circulantes du sang sont très variables, ce qui rend très complexe leur mécanisme de production et de remplacement.

Le point de départ de l'hématopoïèse est une CSH dite primitive qui est multipotente et qui, sous l'influence de facteurs stimulants, va se différencier vers l'une ou l'autre des lignées cellulaires. Elle devient alors une cellule dite progéniteur. Il existe 2 types de progéniteurs : celui qui va s'orienter vers la lignée lymphoïde et celui vers la lignée myéloïde.

Le progéniteur lymphoïde, appelé CFU-L, va former les deux types de lymphocytes, T et B.

Le premier progéniteur myéloïde, appelé CFU-GEMM (Colony Forming Unit - Granuleuse, Erythrocytaire, Macrophage et Mégacaryocytaire) ou CFU-MIX, va former le reste des cellules sanguines et est encore multipotent.

Chaque nom des progéniteurs est défini par l'association du préfixe CFU (Colony Forming Unit) suivi des lettres qui caractérisent les lignées dont elles gardent le potentiel de différenciation.
Les progéniteurs perdent progressivement leur capacité d'auto-renouvellement au fil de leur différenciation et sont peu nombreux et non identifiables morphologiquement.

Après plusieurs divisions, les progéniteurs deviennent spécifiques d'une seule lignée ; ce sont les cellules précurseurs. Les précurseurs les plus immatures sont les myéloblastes, les proérythroblastes, les mégacaryoblastes, les lymphoblastes et les monoblastes. Ce sont les premières cellules des lignées morphologiquement identifiables. (cf. figure 16)
(26;30;31;32)

- Maturation

Durant leur différenciation, les CSH vont subir des modifications morphologiques :
- la diminution de la taille cellulaire.
- la diminution du rapport nucléo-cytoplasmique.
- la disparition des nucléoles.
- la condensation de la chromatine.

Elles vont également subir une maturation engendrant des modifications spécifiques :
- du noyau (ex : polylobulation dans la lignée granuleuse).
- du cytoplasme (ex : granulations spécifiques de la lignée granuleuse).
- de la membrane (ex : apparition de protéines membranaires spécifiques reconnaissables par anticorps monoclonaux). (30)

- Multiplication

Si, lors de l'hématopoïèse, un précurseur ne donnait naissance qu'à un seul élément figuré mature, le rendement et l'efficacité de l'hématopoïèse seraient bien insuffisants. De ce fait, et parallèlement à la maturation, il se produit une division cellulaire à chaque stade de maturation. Selon les lignées, il se produit entre 3 et 5 mitoses de sorte qu'un précurseur peut donner naissance à 16 cellules filles et fournit donc une quantité de cellules suffisante à l'homéostasie sanguine. (30)

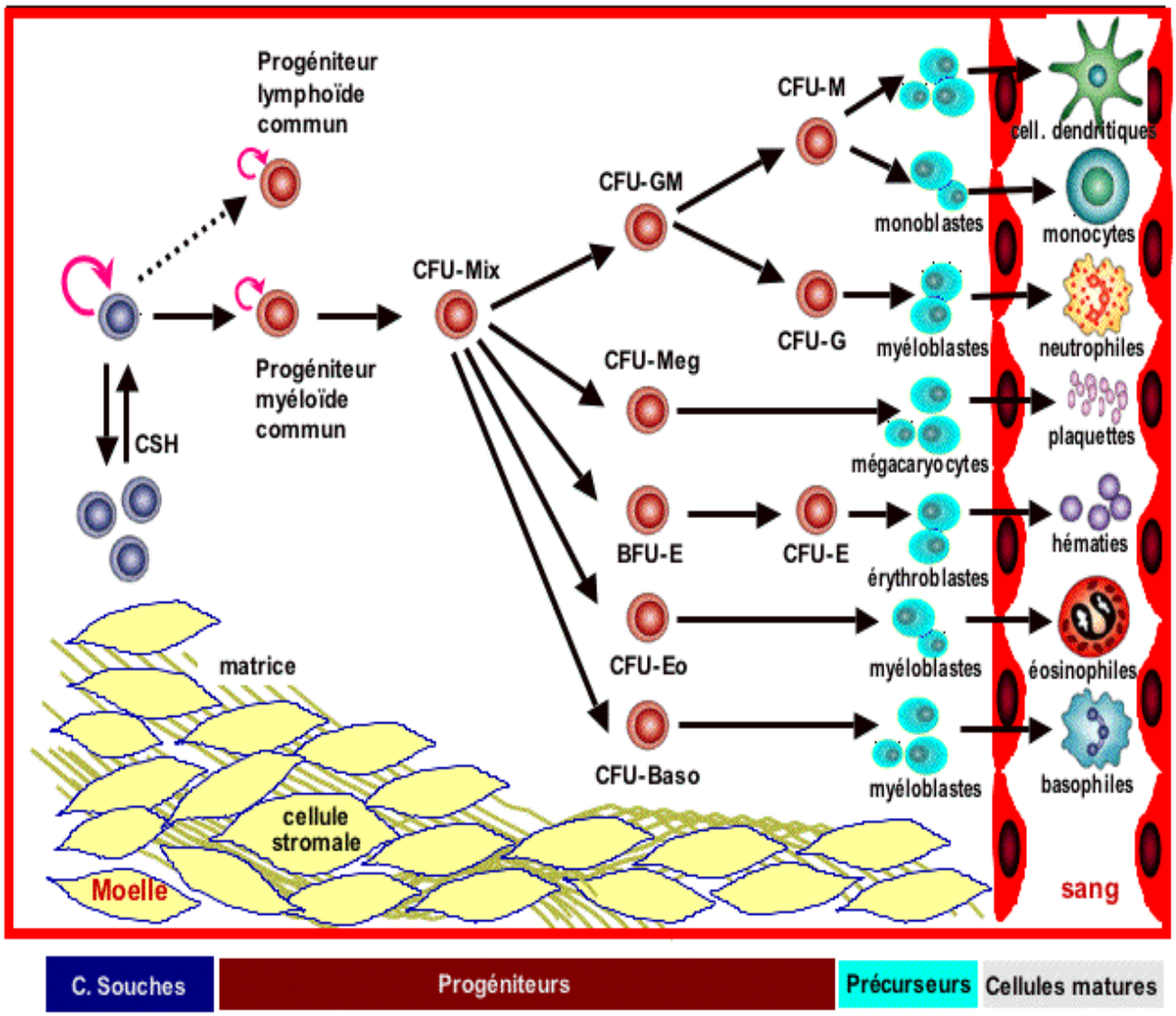


Figure 16 : L'hématopoïèse (33)

On visualise sur ce schéma les différentes voies de formation des éléments figurés du sang à partir d'une CSH unique.

C.3. Facteurs de croissance hématopoïétique (FCH)

Pour assurer leur survie, leur différenciation, leur multiplication, leur maturation et donc une hématopoïèse efficace, les CSH ont besoin d'un microenvironnement médullaire spécifique, de vitamines et d'oligoéléments comme les vitamines B9 et B12 mais surtout de facteurs de croissance spécifiques. Les FCH sont des glycoprotéines qui agissent comme des "hormones hématopoïétiques". A l'exception de l'EPO synthétisé par le rein, les FCH peuvent être synthétisés par différents types de cellules comme les cellules endothéliales, les fibroblastes, les macrophages, les lymphocytes. Ces cellules sont retrouvées dans le stroma médullaire et produisent les FCH dans la moelle osseuse. Ces FCH sont des cytokines sauf ceux synthétisés spécifiquement par les lymphocytes que l'on nomme interleukines (IL) et qui reconnaissent leurs cellules cibles par l'intermédiaire de récepteurs membranaires.

En fonction de leur site d'action au cours de l'hématopoïèse, on peut distinguer 3 types de facteurs de croissance :

- Les facteurs multipotents

Ils permettent la survie et la différenciation des CSH.
Ce sont l'IL 3 et le GM-CSF (Colony Stimulating Factor) que l'on retrouve a tous les stades de différenciation de la lignée myéloïde.

- Les facteurs de promotion

Ils augmentent le nombre de CSH et les sensibilisent à l'action des autres facteurs de croissance.
Ce sont principalement l' IL 1, l' IL 4, l' IL 6 et le SCF (Stem Cell Factor).

- Les facteurs restreints

Ils agissent sur les cellules souches déjà engagées en favorisant la multiplication cellulaire et la maturation des précurseurs.
Ce sont le G-CSF, le M-CSF, l'IL 4, l'IL 5, l'IL 6, l'EPO et la TPO.
(31)

En résumé

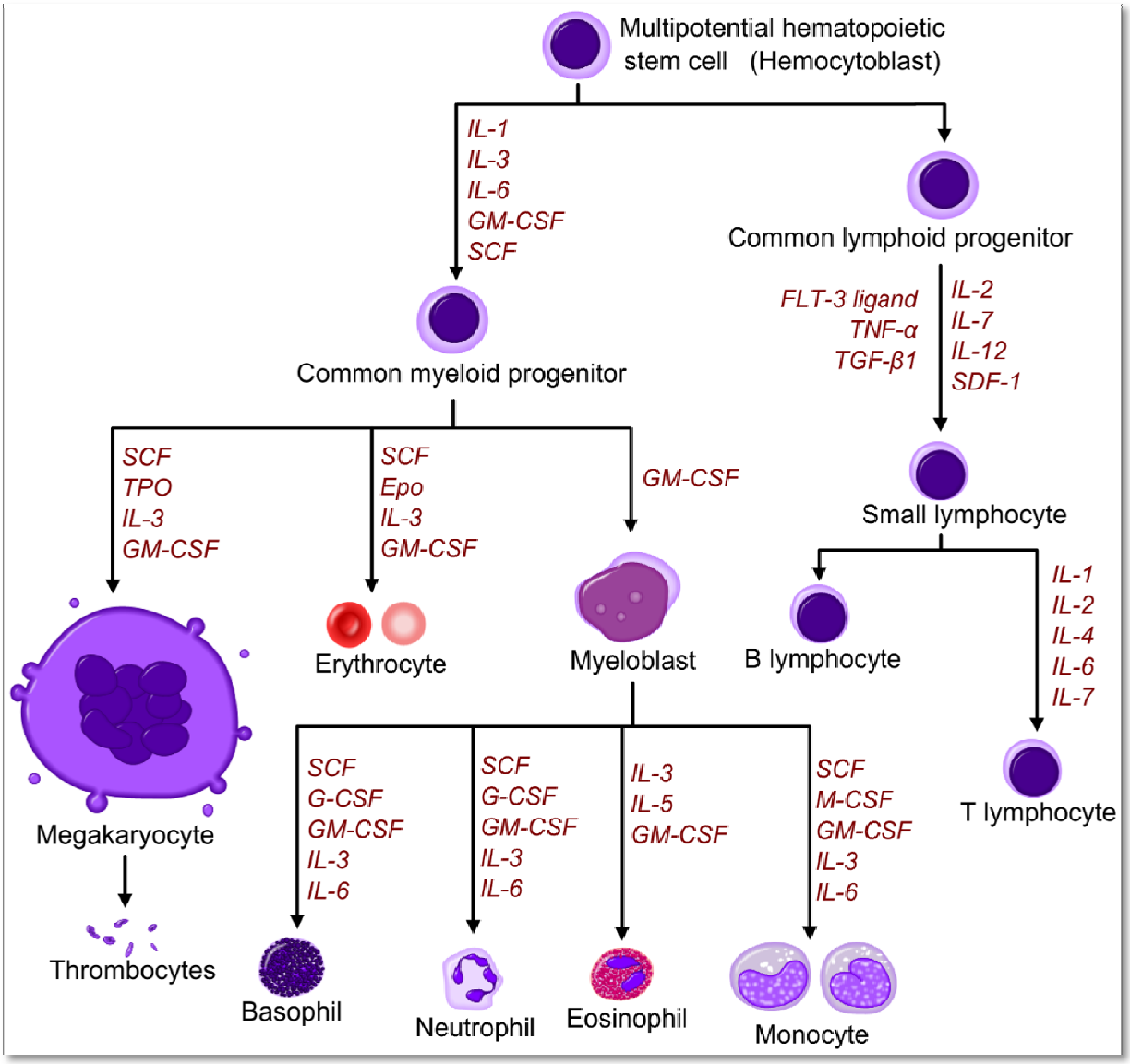


Figure 17 : Facteurs de croissance hématopoïétiques.

D'après *http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Hematopoietic_growth_factors.png*

C.4. Caractérisation des CSH

Durant de nombreuses années, il a été très difficile d'identifier précisément les CSH.
D'un point de vue du comportement et de la morphologie, elles sont indifférenciables des lymphocytes ce qui rend les techniques de morphologie de la moelle osseuse (myélogramme et biopsie ostéomédullaire) inadaptées pour les observer et les quantifier. De plus, à l'état normal, la majorité des cellules souches sont au repos, au stade G0 du cycle cellulaire.

Il est pourtant nécessaire de les isoler pour pouvoir, dans les protocoles de greffe, injecter une population cellulaire relativement riche pure de CSH.
C'est en 1988 que le Dr Irving Weissman et ses collaborateurs ont mis en évidence des marqueurs protéiques à la surface des CSH appelés cluster de différenciation (CD). (34)
Le premier marqueur découvert fut l'antigène CD 34, dont l'identification a constitué une avancée importante pour la biologie cellulaire en général. Grâce à lui, il a été possible d'estimer la richesse du sang ou de la moelle en cellules immatures intéressantes à greffer grâce à des méthodes de cytométrie de flux. Ces cellules sont dites CD34+. (35)

Cependant, les CSH réellement capables de reconstituer durablement l'hématopoïèse complète ne représentent que 0,1% à 1% de toutes les cellules CD 34+. Cet antigène est donc important mais pas suffisant, il a fallu mettre en évidence d'autres marqueurs d'identification. (cf. figure 18) (34)

En 1999, une étude a analysé phénotypiquement et fonctionnellement des cellules CD34+ dépourvues de marqueurs spécifiques d'une lignée. Les résultats ont indiqué que la CSH primitive exprime un récepteur KDR (ou VEGFR2), ce qui permettrait de faire une distinction entre les CSH [CD34+ KDR+] et les progéniteurs engagés dans la différenciation [CD34+ KDR-]. Ceci devra être confirmé dans des expériences ultérieures.
(15;19;30;34;35;36)

Blood Vessel			Gene Symbol
ABCG2 (CDw338)	Primitive Stem Cells	Cell Surface	ABCG2
Fetal liver kinase-1 (Flk1); aka VEGFR	Endothelial	Cell Surface	KDR
Smooth muscle cell-specific myosin heavy chain	Smooth muscle	Intracellular	MYH11
Vascular endothelial cell cadherin (CD-144)	Smooth muscle	Cell Surface	CDH5
Bone Marrow & Blood			
Bone morphogenetic protein receptor (BMPR)	Mesenchymal stem and progenitor cells	Cell Surface	BMPR1B
Bone Morphogenic Protein (BMP-2)	ESC, endoderm	Secreted	BMP2
Bone Morphogenic Protein (BMP-4)	ESC, endoderm	Secreted	BMP4
CD3	Leukocyte lineage	Cell surface	
CD4	Leukocyte lineage	Cell surface	CD4
CD8	Leukocyte lineage	Cell surface	CD8A
CD19	Leukocyte lineage	Cell surface	CD19
CD34	Hematopoietic stem cell (HSC),	Cell Surface	CD34
$CD34^{+}Sca1^{+}Lin^{-}$ profile	Mesencyhmal stem cell (MSC)		ATXN1
CD38	Absent on HSC; Present on WBC	Cell Surface	CD38
CD44	HSC, MSC	Cell Surface	CD44
CD45	Leukocyte lineage	Cell Surface	PTPRC
c-Kit	HSC, MSC	Cell Surface	KIT
Mac-1	WBC	Cell Surface	ITGAM
Muc-18 (CD146)	Bone marrow fibroblasts, endothelial	Cell Surface	MCAM
Stem cell antigen (Sca-1)	Stromal cell, fibroblasts	Cell Surface, secreted	CASP3

Figure 18 : Marqueurs de surface des CSH du sang circulant et de la moelle osseuse les plus couramment utilisées. (47)

PARTIE 2

Les greffes de cellules souches hématopoïétiques

A. Différents types de greffe

A.1.Greffe autologue

A.1.1. Définition

Une greffe autologue, également appelé autogreffe, est une greffe où le patient reçoit ses propres CSH.
A l'heure actuelle, les CSH utilisées pour les greffes autologues proviennent du sang périphérique. L'utilisation des CSH issues de la moelle osseuse est devenue exceptionnel. (19)

Dans un premier temps, le malade va recevoir un traitement dit de conditionnement à l'aide d'une chimiothérapie et/ou radiothérapie dans le but de réduire la maladie à son plus bas niveau. Le greffon sera ensuite prélevé, traité pour détruire un maximum de cellules malignes résiduelles puis congelé et conditionné afin de permettre son stockage. (cf. figure 19)
Généralement, la greffe autologue est pratiquée si le patient peut recevoir un traitement de chimiothérapie et/ou de radiothérapie de forte intensité. Le prélèvement de ses cellules souches se fait au début du protocole afin de les protéger des effets néfastes de la chimiothérapie et/ou de la radiothérapie. La greffe lui permettra par la suite de récupérer et de reconstruire son système sanguin et immunitaire après ce traitement intensif.

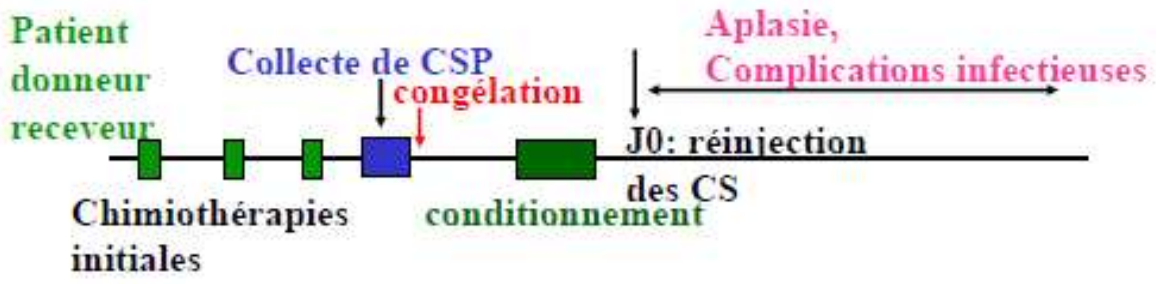


Figure 19 : Schéma du processus d'autogreffe de CSH. (37)

A.1.2. Indications

Les hémopathies malignes représentent 90% indications de greffes autologues de CSH. (cf. figure 20)
Parmi ces hémopathies, les myélomes et les lymphomes non hodgkiniens représentent le plus grand nombre de cas. On retrouve ensuite et, en moindre proportion, les lymphomes de Hodgkin puis les leucémies (LAM, LLC, LLA). (Cf. figure 20)
Les autogreffes peuvent être utilisées dans le but d'une intensification thérapeutique ou pour consolider un traitement lors d'une rechute.

De nouvelles indications ont également émergé dans les cas de tumeurs solides en l'absence de métastases médullaires.
Dans la majorité de ces tumeurs, on retrouve le cancer du sein, les neuroblastomes et les autres tumeurs du système nerveux mais aussi les tumeurs ovariennes et les tumeurs osseuses.

Enfin, on voit apparaitre depuis ces dernières années des greffes autologues dans des cas de maladies auto-immunes comme la sclérose en plaque ou le lupus érythémateux disséminé.(19) (cf. figures 21 et 22)

(3;19;24;38;39)

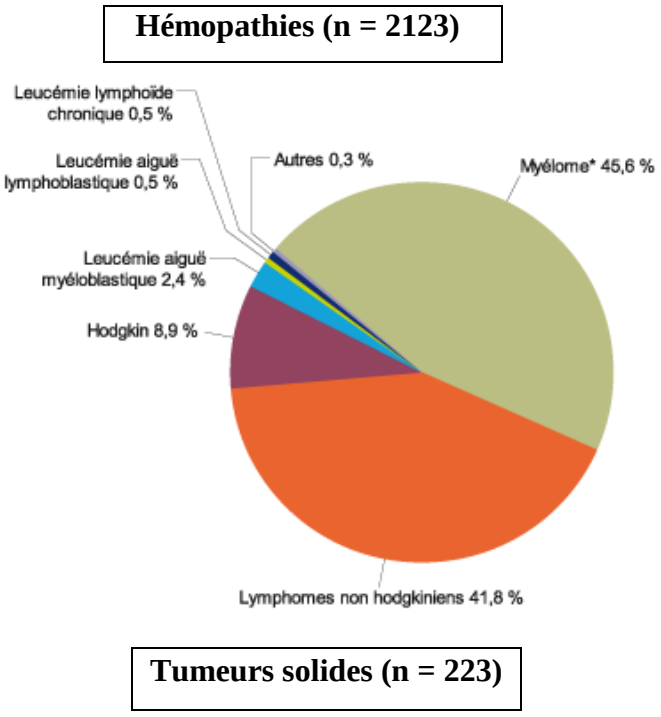
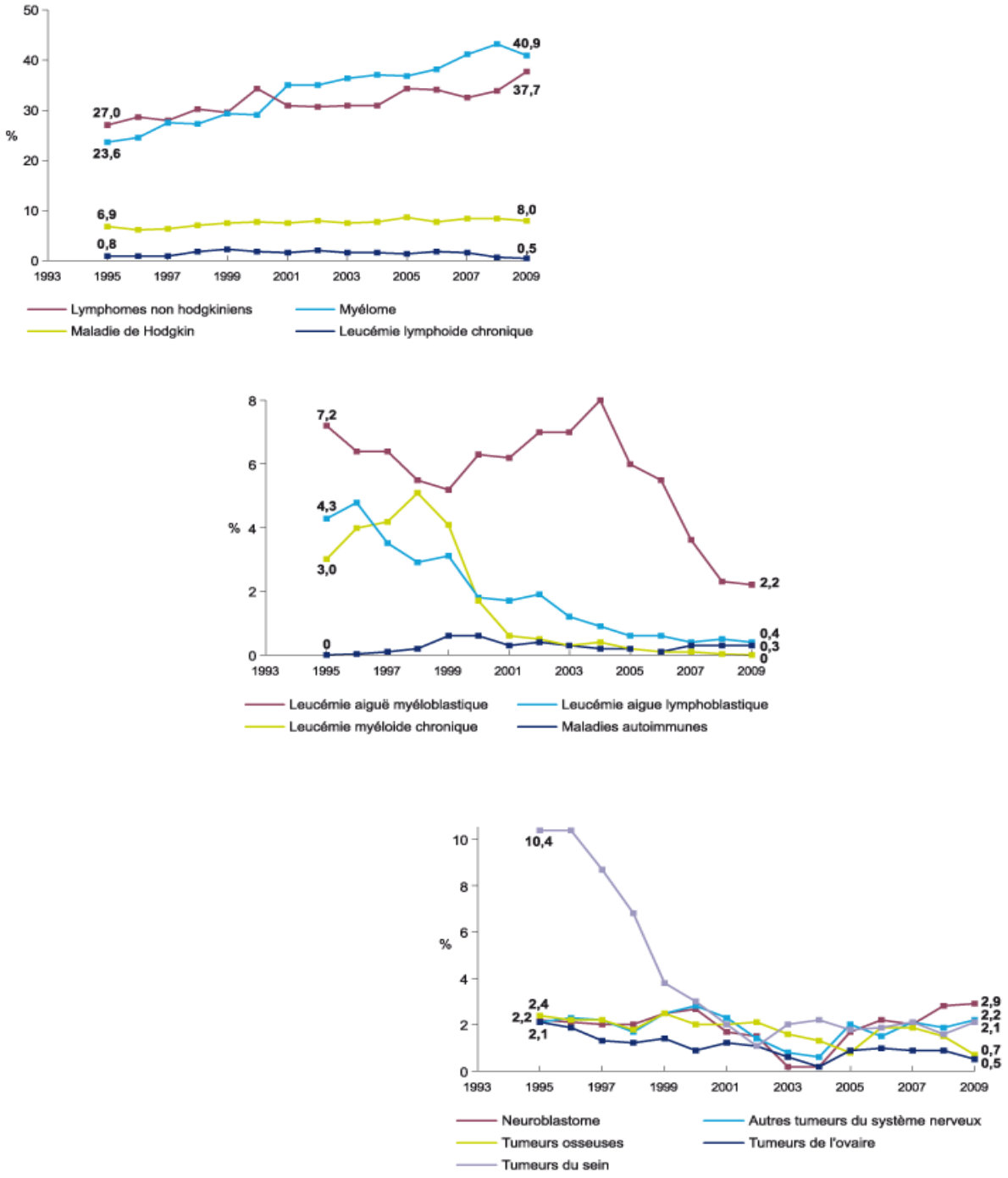


Figure 20 : Répartition des diagnostiques chez les patients ayant eu une autogreffe de CSH en 2009 et pour lesquels le diagnostic est connu. (24)

	2005	2006	2007	2008	2009
Nombre de greffes autologues	3 121	2 949	2 860	2 951	2 675
Nombre de patients	2 772	2 669	2 627	2 786	2 528
Proportion d'hémopathies (%)	88,5	88,6	88,8	89,4	90,2
Proportion de tumeurs solides (%)	11,5	11,4	10,9	10,3	9,5
Proportion de maladie auto-immune (%)	0	0	0,3	0,3	0,3

Figure 21 : Evolution de l'activité d'autogreffe de CSH entre 2005 et 2009. (24)

On observe que le nombre d'autogreffes réalisées et le nombre de patients traités baisse depuis ces dernières années. En proportion, le nombre de tumeurs solides traités diminue alors que le nombre d'hémopathies augmentent. La proportion de maladie auto-immune reste quand à elle stable.



<u>Figure 22 : Evolution de la répartition des indications d'autogreffe entre 1993 et 2009</u>.

(24)

On observe que depuis 1993, que le nombre de lymphomes non-hodgkiniens et de myélome traités par autogreffe augmente. Au contraire, pour les LAM, LMC, LAL et tumeurs du sein, le nombre d'autogreffes diminue fortement. Pour les autres indications, LLC, maladie auto-immune et lymphome de Hodgkin, le nombre de greffe reste stable.

A.1.3. Avantages et inconvénients des autogreffes de CSH

Le principal avantage de ce type de greffe est l'absence totale de GVH (réaction du greffon contre l'hôte) puisque le patient reçoit ses propres cellules. Le risque de rejet est donc nul et le receveur se rétablit généralement plus rapidement sans avoir recours aux traitements immunosuppresseurs anti-rejets.

Cependant, ces autogreffes ne sont pas dépourvues de risques.
Le plus important est lié aux traitements de chimiothérapie et/ou de radiothérapie qui précèdent la réinjection du greffon. Ces traitements de forte intensité détruisent en plus des cellules cancéreuses le système immunitaire du patient. De ce fait, le risque de complication infectieuse est très élevé.
La toxicité du conditionnement et les risques liés à une récidive ou une rechute doivent également être pris en compte. Ces risques de rechutes sont principalement liés à l'absence d'effet GVL (réaction du greffon contre la maladie) puisque le donneur et le receveur sont une seule et même personne. De plus, le greffon qui est prélevé au moment ou la maladie est très faible peut quand même contenir quelques cellules malignes résiduelles. Des techniques de purges du greffon existent pour le débarrasser de ces cellules tumorales. Elles peuvent être de deux types, soit détruire les cellules cancéreuses, soit n'extraire que les CSH présentes dans le greffons. (cf. figure 38)

Le taux de mortalité d'une greffe autologue est le plus souvent inférieur à 5%. Les décès qui surviennent à la suite d'une greffe autologue sont surtout constatés chez les patients âgés qui présentent des comorbidités en plus de leur maladie hématologique.
(19;38)

A.2.Greffe allogénique

A.2.1. Définition

Dans une greffe allogénique ou allogreffe, le donneur et le receveur sont deux personnes différentes. Le receveur subira comme dans le protocole autologue une chimiothérapie et/ou une radiothérapie dans le but de réduire sa maladie au minimum et de détruire sa moelle osseuse. On lui injectera par la suite les CSH du donneur qui reconstitueront le système immunitaire et pourront lutter contre la maladie. (cf. figure 23)

Du point de vue de l'histocompatibilité, l'allogreffe est plus complexe que la greffe autologue puisqu'il existe une différence de patrimoines génétiques entre le donneur et le receveur. Ils doivent être le plus compatible possible du point de vue du système HLA pour que la greffe puisse être envisagée.

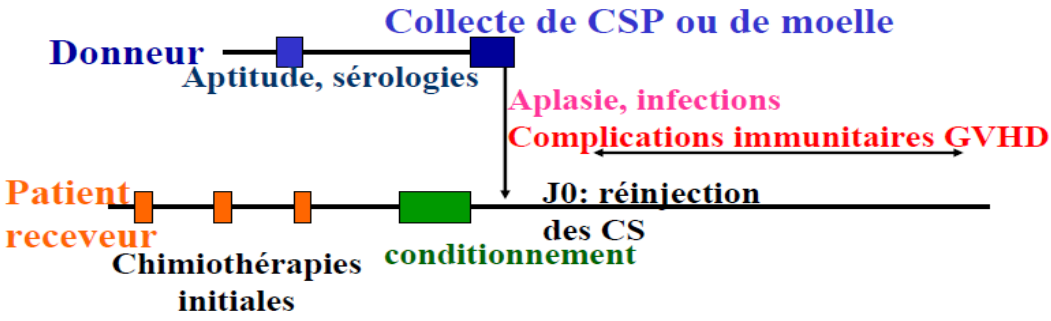


Figure 23 : Schéma du processus d'allogreffe de CSH. (37)

Actuellement, ces greffes sont réalisables à partir des trois sources de cellules souches mais les CSP sont les plus fréquemment rencontrées. La moelle reste encore utilisée mais en moindre proportion et les CSH issues du sang de cordon sont de plus en plus fréquentes. (cf. figure 24) (20)

C'est dans la famille proche du receveur que l'on a le plus de chances de trouver un donneur HLA compatible. Si la compatibilité au sein de la famille est insuffisante, les médecins auront recours aux banques de donneurs non apparentés ou bien aux banques de sang de cordon.

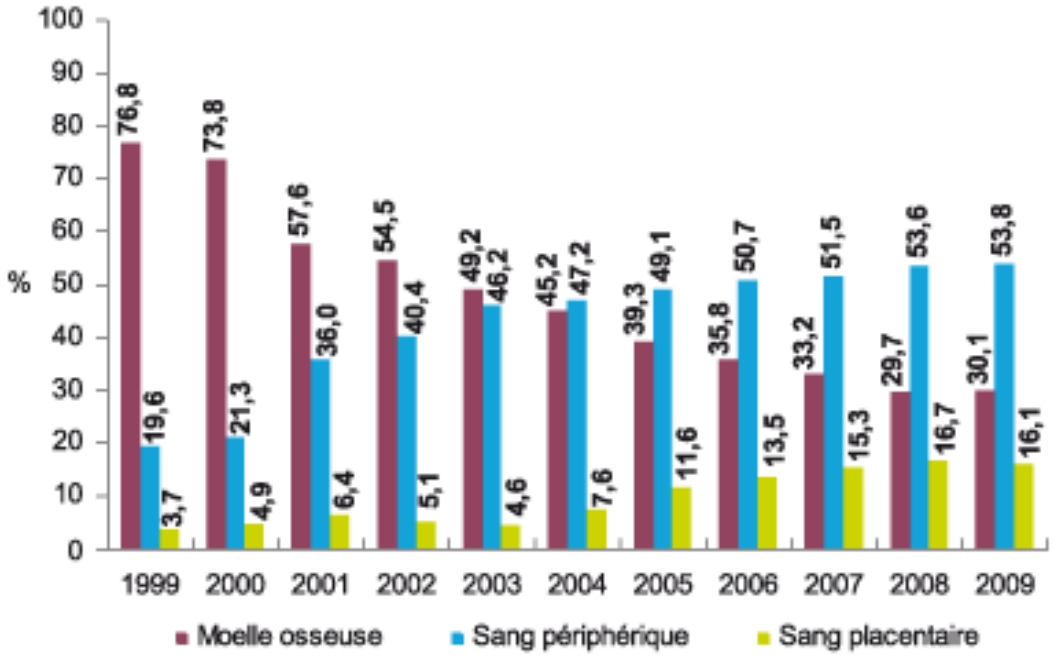


Figure 24 : Evolution de la répartition des sources de greffon pour les allogreffes de CSH. (24)

Trois types de donneurs, sur un plan de parenté et d'histocompatibilité, peuvent être utilisés dans cette situation. (cf. figure 25)
(21;40)

- *Frère ou sœur géno-identique :*

  Le donneur est ici un frère ou une sœur du malade qui porte les mêmes antigènes HLA. La greffe est dite géno-identique.

  Comme il ne s'agit pas de vrais jumeaux, il existe par conséquent des différences entre le donneur et le receveur qui portent sur d'autres antigènes que ceux du système HLA.

  S'il existe dans une fratrie plusieurs frères et sœurs HLA identiques avec le patient, le donneur est choisi en fonction de son statut cytomégalovirus (CMV) et de facteurs de risque de GVHD (sexe du donneur, différence de sexe entre le donneur et le receveur, nombre de grossesses chez la femme donneuse...).

- *Donneur non apparenté phéno-identique* :

  Le donneur est le plus souvent non issu de la famille, mais un volontaire inscrit sur un fichier de donneurs, qui partage avec le patient les mêmes antigènes d'histocompatibilité.

Dans ce cas, on utilise soit des CSP, soit des CSH issues de sang de cordon. Ces greffes sont dites phéno-identiques.

Dans de rares cas, ces donneurs peuvent être le père, la mère ou un autre membre de la famille.

- *Un donneur HLA non phéno-identique*.

  Si aucun donneur familial géno-identique ou donneur non apparente n'est compatible, il est possible d'envisager des greffes à partir d'un donneur familial non géno-identique. Ce donneur est dit incompatible car il diffère du patient par 1, 2 ou 3 antigènes du système HLA. On parle alors de greffe haplo-identique car ses antigènes HLA sont partiellement identique.

  On peut aussi retrouver le cas de greffons provenant d'un donneur non familial où il existe des incompatibilités alléliques ou antigéniques sur un ou plusieurs antigènes du système HLA, en nombre et localisations considérés comme potentiellement compatibles avec la réussite de la greffe. Ici, c'est le rapport bénéfice risque qui détermine l'utilisation ou non de ces greffons.

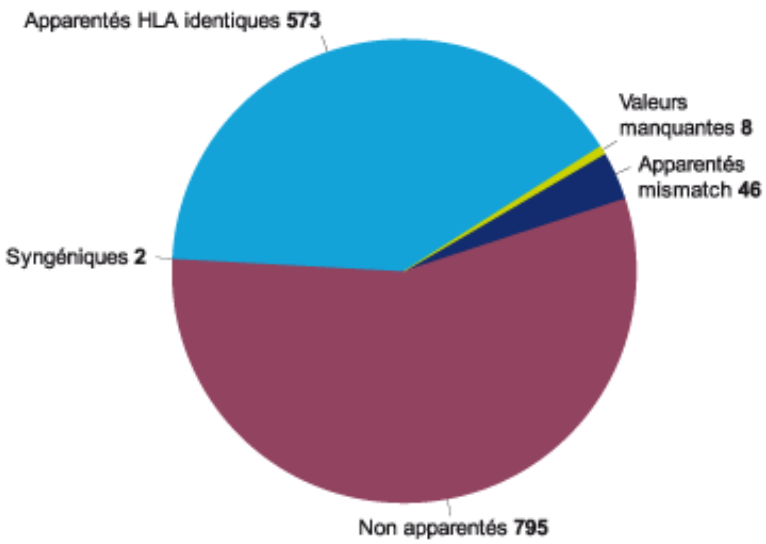


Figure 25 : Répartition des allogreffes de CSH réalisées en 2009 selon le type du donneur. (24)

Apparenté HLA identique = géno-identique

Apparenté mismatch = HLA non phéno-identique.

Il existe deux grands types de greffe allogéniques, la greffe avec conditionnement myéloablatif et la greffe avec conditionnement non myéloablatif. (38;39;40)

- *La greffe avec conditionnement myéloablatif* :

Elle consiste dans un premier temps à détruire, par une chimiothérapie et/ou une radiothérapie à forte intensité et des immunosuppresseurs, les cellules tumorales du receveur avant de transplanter ou d'injecter les cellules souches saines d'un donneur. Dans cette stratégie thérapeutique, la chimiothérapie à forte intensité détruira les cellules tumorales, le système hématopoïétique du patient à l'origine de la maladie et son système immunitaire. On a donc un effet myéloablatif et immunosuppresseur. Le système immunitaire du patient est ensuite remplacé via le greffon par celui du donneur qui possède la faculté de lutter contre les cellules tumorales résiduelles. Par cette approche, la réaction du greffon contre la tumeur (GvL) est stimulée mais les effets indésirables liés à la chimiothérapie sont plus lourd rendant ce protocole de moins en moins utilisée (cf. figure 42). La greffe avec conditionnement myéloablatif est indiquée pour les cancers ou maladies avec atteinte de la moelle osseuse, c'est-à-dire les myélodysplasies, certaines leucémies aigües, les aplasies médullaires et certains syndromes myéloprolifératifs et lymphoprolifératifs.

- *La greffe avec conditionnement non myéloablatif* :

Elle évite ici la chimiothérapie à haute intensité. Avant la greffe, un traitement immunosuppresseur est administré au patient afin de lui permettre de tolérer le greffon en bloquant l'action des lymphocytes du receveur et en évitant ainsi le rejet du greffon. Le greffon ainsi toléré agit selon l'effet GvL contre les cellules tumorales du receveur. Avec cette stratégie, on donne des outils supplémentaires au patient pour qu'il puisse lutter lui-même contre sa maladie (effet GVL) tout en évitant la toxicité d'une chimiothérapie à forte intensité. La greffe avec conditionnement non myéloablatif est recommandée chez les patients âgés ou chez les patients présentant d'autres facteurs de comorbidités rendant une chimiothérapie à fortes doses risquée. Elle est également recommandée lors de maladie indolente ou se développant lentement. Ce conditionnement est en constante progression d'utilisation depuis une dizaine d'année. (cf. figure 42)

Les principaux risques liés à la greffe allogénique sont la toxicité des protocoles de conditionnement myéloablatif, les risques de rejet et la réaction du greffon contre l'hôte (GvH). Il existe également des risques de complications infectieuses dans les deux types de

greffe allogénique. Le taux de succès dépend de plusieurs facteurs : la compatibilité HLA du donneur et du receveur ; le type de maladie et son stade ; la santé générale du receveur ; etc. Il est donc très délicat d'indiquer les chances de réussite d'une greffe allogénique.

A.2.2. Indications

Les indications des allogreffes sont plus étendues que pour les autogreffes mais ce sont toujours les hémopathies qui prédominent.

Pour les greffes apparentées et non-apparentées, la principale indication est la LAM suivi de la LAL, du lymphomes non hodgkiniens puis des myélodysplasie et myélomes. (cf. figure 26 et 27)

D'autres indications peuvent nécessiter le recours à des allogreffes de CSH, comme des tumeurs solides, des aplasies médullaires constitutionnelles, des déficits immunitaires, des hémoglobinopathies ou encore des déficits enzymatiques du tissu hématopoïétique (maladie de Gaucher). (cf. figure 28)

(19;24;41)

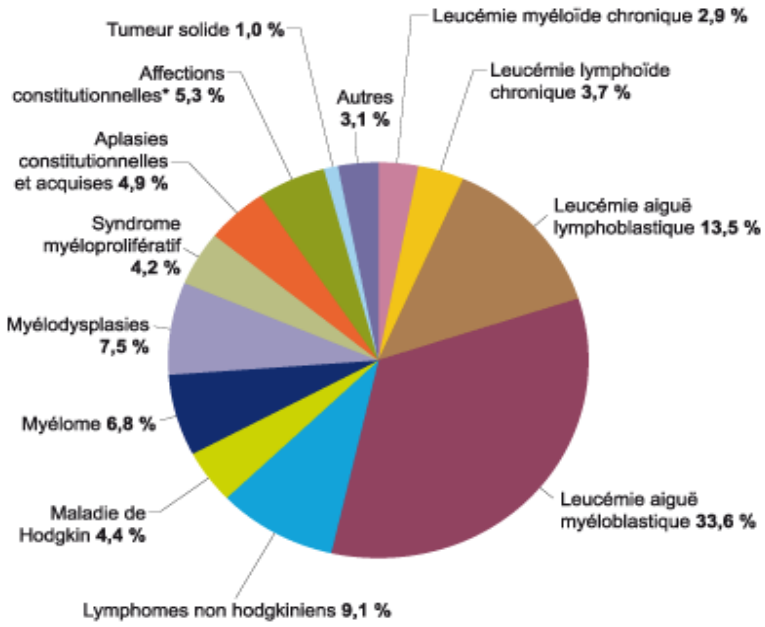


Figure 26 : Répartition des indications en 2009 des allogreffes apparentées (n=616).

(24)

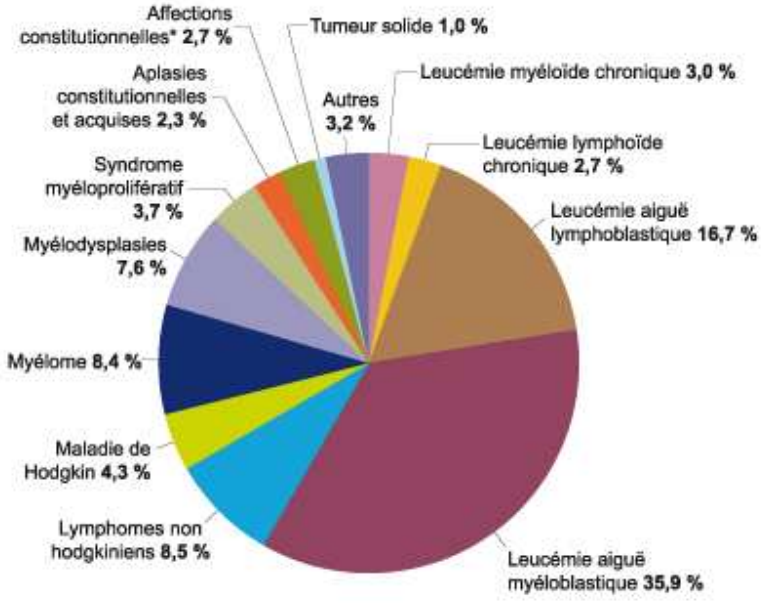
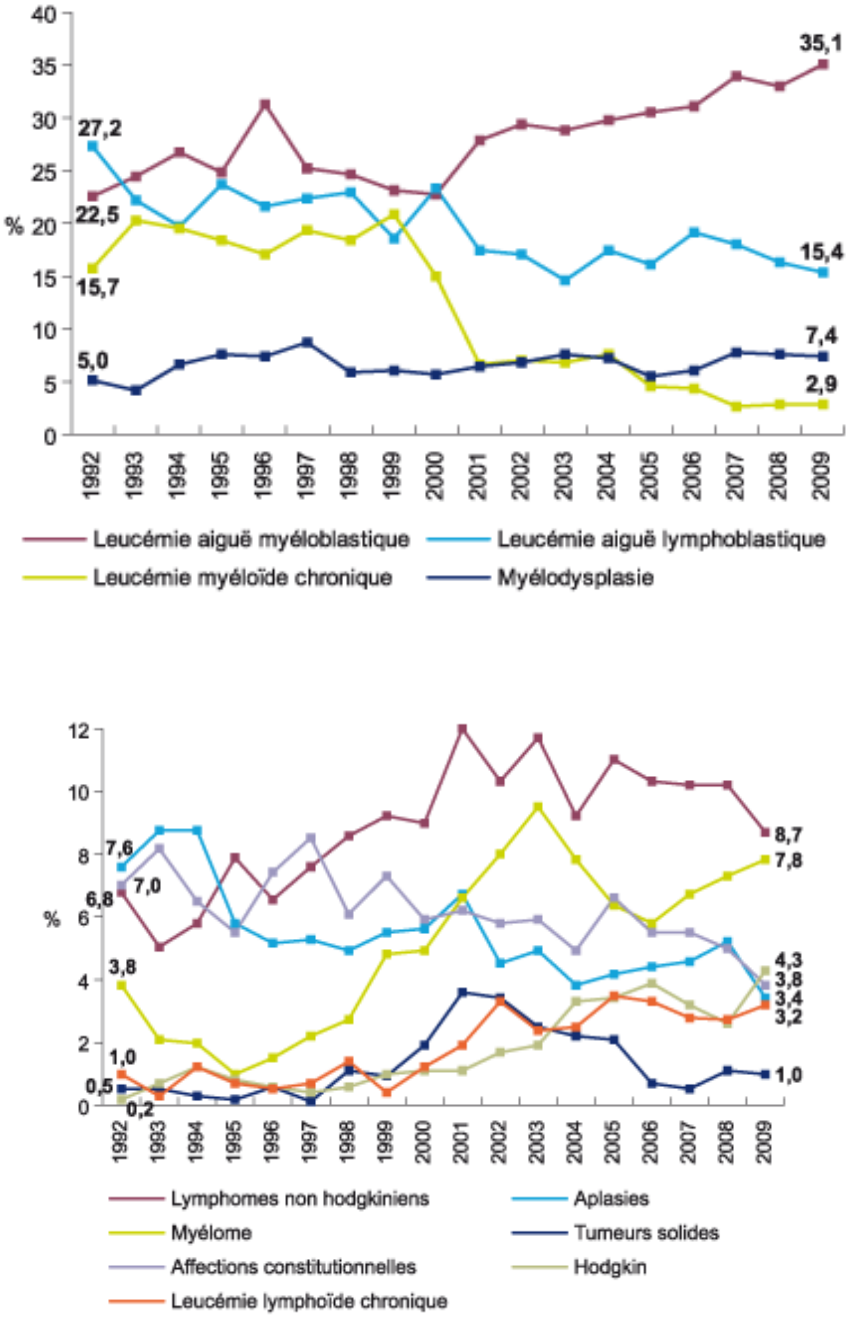


Figure 27 : Répartition des indications en 2009 des allogreffes non apparentées (n=743).

(24)



<u>Figure 28 : Evolution de la répartition des indications d'allogreffe entre 1992 et 2009</u>.

(24)

On constate que depuis ces 20 dernières années, le nombre de greffe pour les LAM a considérablement augmenté. D'autres indications on également connu des progressions importantes comme le myélome, les LLC, les lymphomes hodgkiniens et non hodgkiniens.

En revanche, on observe nettement que pour les LMC, le nombre de greffe a fortement diminué. Il en est de même pour les LAL et les aplasies.

A.2.3. Avantages et inconvénients des allogreffes de CSH

Le plus grand avantage de la greffe allogénique est l'effet GvL (réaction du greffon contre la maladie). Comme le greffon provient d'un donneur différent du receveur, il possèdent entre autre des lymphocytes T qui vont reconnaitre les cellules malignes restantes chez le malade et les détruire. Le patient ainsi greffé pourra lutter lui-même contre sa maladie. De plus, les cellules du greffon vont reformer un système immunitaire que le patient gardera à vie, ce qui réduit le risque de rejet à plus long terme.

Les inconvénients de cette procédure allogénique sont comme pour l'autogreffe la toxicité liée au conditionnement myéloablatif. Peu d'effets indésirables graves sont observés avec les conditionnements non-myéloablatifs. Le risque de rejet et la GvH (reaction du greffon contre le receveur) et les infections sont également des risques de ce type de greffe. (cf. figure 38) (19;38)

Ces complications induisent une mortalité due à la greffe de l'ordre de 15 à 30%. Elle varie suivant l'âge et les antécédents du malade et également en fonction du degré de d'histocompatibilité entre le donneur et le receveur. (19)

A.3.Greffe syngénique

Lorsque le donneur du greffon est le jumeau identique du receveur, la greffe est appelée syngénique. Les systèmes HLA du donneur et du receveur sont donc totalement identiques ce qui permet dans certains cas de s'affranchir du conditionnement pré-greffe, notamment pour les aplasies médullaires et des traitements anti-rejets. La fréquence de ces greffes est faible en raison du peu de vrais jumeaux dans la population. (21)

En résumé

	Autologue	***Allogénique***
Maladies congénitales		
Déficits immunitaires graves	-	+
Hémoglobinopathies sévères	-	+
Certains défauts métaboliques	-	+
Pathologies non malignes		
Anémie aplasique	-	+
Certaines maladies auto-immunes sévères	+	+/-
Pathologies malignes		
Leucémies		
Leucémie myéloïde aigue	+/-	+
Leucémie lymphoïde aigue	+/-	+
Leucémie myéloïde chronique	-	+
Leucémie lymphoïde chronique	+/-	+/-
Syndromes myélodysplasiques et myéloproliferatif	-	+/-
Lymphomes		
Myélome	+	+/-
Lymphome non Hodgkinien	+	+/-
Lymphome de Hodgkin	+	+/-
Tumeurs solides		
Certaines tumeurs de l'enfant	+	-

– En principe, pas d'indication de la greffe.

+/- La greffe de CSH peut être envisagée dans certains sous-groupes.

+ La greffe de CSH doit être envisagée.

Figure 29 : Indications d'une transplantation de cellules souches hématopoïétiques. (22)

B. Les greffons de cellules souches hématopoïétiques

B.1.Greffons issus de la moelle osseuse ou du sang circulant

B.1.1. Conditions de prélèvement

B.1.1.1. Moelle osseuse

Le prélèvement de la moelle osseuse peut avoir lieu en trois sites :

- *crêtes iliaques* : Cette zone représente un large réservoir de moelle osseuse et permet d'effectuer simultanément une aspiration et une biopsie ostéo-médullaire (BOM). De ce fait, il est possible de réaliser des examens cytologiques et histologiques en même temps. Cette voie présente l'avantage de ne pas être à porter d'organes vitaux et permet d'opérer en dehors du champ de vue du malade. Le recueil dure environ 1h00 à 1h30 et permet de retirer une quantité de cellules suffisante sans danger pour le donneur et assurant une récupération efficace de la moelle du receveur après la greffe. (42;43)
  L'objectif est de recueillir 3 à 4. 10^8 cellules nucléés/kg de poids de receveur ce qui est généralement obtenu avec un prélèvement de 10 à 15 ml de moelle /kg de poids de receveur. La réglementation interdit de dépasser un prélèvement de 20 ml de moelle /kg de poids de receveur et ce dans le but d'éviter les contaminations, seulement 10mL doivent être prélevés a un même endroit de ponction. (3;21)



Figure 30 : Prélèvement de MO au niveau des crêtes iliaque. (42)

- *sternum* : Plus précisément dans la zone du manubrium sternal, au niveau du second espace intercostal. Cette procédure est réservée aux patients de plus de 15 ans et permet seulement une aspiration de la moelle et non pas une biopsie ostéo-médullaire. Cette voie ne représente que 5 à 7% des ponctions du fait de la proximité cardiaque et d'une angoisse plus importante du patient. (42)

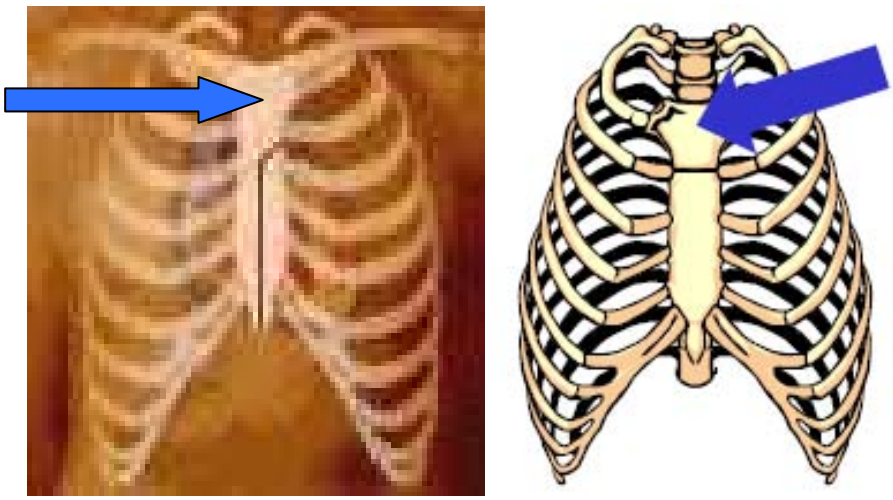


Figure 31 : Prélèvement de MO au niveau du sternum. (42)

- *tibia* : Cette voie est réservée aux enfants de moins de 18 mois et ne permet qu'une aspiration médullaire. (42)

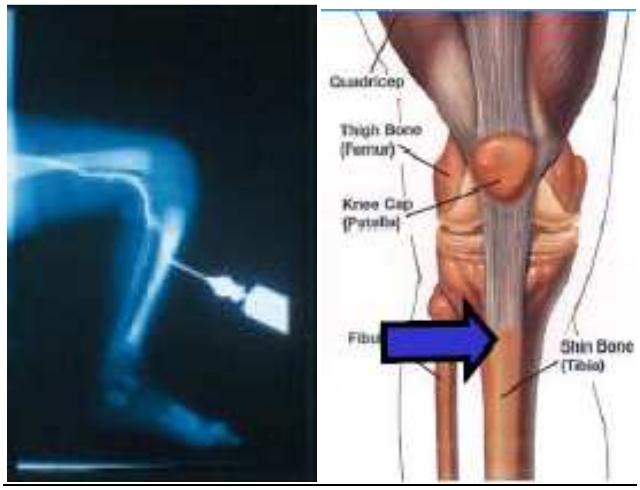


Figure 32 : Prélèvement de MO au niveau du tibia. (42)

Durant le prélèvement, la ponction est réalisée à l'aide d'un trocart adaptée sur une seringue luer lock. La moelle osseuse est aspirée puis sera étalée sur plusieurs lames pour un examen cytologique et/ou un myélogramme au microscope. Cela permet de connaitre quantitative et qualitative la composition du greffon prélevé.

La biopsie ostéo-médullaire est réalisée à l'aide du même trocart. Après une éventuelle aspiration, l'aiguille est un peu plus enfoncée d'environ 3cm et une carotte de moelle osseuse est alors récupérée.

La biopsie permet d'analyser les tissus, l'aspect de la moelle et de l'os spongieux et également par microscopie optique, d'étudier qualitativement le volume occupé par les divers composants (rapport de volume entre cellules hématopoïétiques actives et cellules graisseuses) et leur aspect.

Les complications associées à ces procédures de prélèvements sont principalement des saignements, douleurs, infections et peuvent aller jusqu'à la perforation d'une artère à la surface du cœur si l'aiguille traverse le sternum. Le donneur peut avoir une sensation de brûlure et de douleur lors de l'injection de l'anesthésiant qui peuvent persister pendant plusieurs jours. (42)

Pour pallier à la faible déplétion sanguine et à l'asthénie résultant de la ponction de moelle osseuse, il peut être proposé au donneur une auto-transfusion de concentré érythrocytaire qui est prélevés quelques semaines avant le don. Cette pratique est discutée et ne se retrouve pas de manière systématique. En revanche, il est conseillé de supplémenter le donneur en fer après la ponction de moelle. (19;21)

B.1.1.2. Cellules souches périphériques

❖ Phase de mobilisation

En l'état normal, en dehors de toute stimulation, la concentration sanguine en progéniteurs hématopoïétiques est extrêmement faible, ne permettant pas un recueil suffisant. La découverte que l'on pouvait « mobiliser » les cellules souches médullaires et les faire circuler dans le sang, a permis d'envisager une autre source de cellules souches pour les greffes.

Le sang circulant après un conditionnement par des facteurs de croissance comme le G-CSF, seul ou en combinaison avec une cure de chimiothérapie.

L'utilisation de facteurs de croissance de typer G-CSF permettraient de stimuler l'auto-renouvellement des CSH logée dans la niche osseuse. De ce fait, leur nombre augmente

considérablement en saturant la niche ostéoblastique ce qui provoque leur relargage dans la circulation sanguine. D'autre part, les FCH permettraient aussi de faire rentrer dans le cycle cellulaire les CSH fixées aux ostéoblastes en GO. En induisant leur passage en G1, les CSH pourraient sortir hors de la niche osseuse.
C'est actuellement la procédure la plus utilisée car les CSP ainsi recueillies sont douées de capacités de reconstruction hématologiques bien plus rapide que les greffons médullaires.
Actuellement, parmi les facteurs de croissance, seul le G-CSF dispose d'une AMM en France dans cette indication de mobilisation des CSH. Le stem Cell Factor (SCF) possède une ATU après un premier échec de mobilisation par le G-CSF seul ou par chimiothérapie associée au G-CSF.
Pour le G-CSF, deux formes sont actuellement disponibles dans l'indication de mobilisation de CSH : le filgrastim (forme recombinante non glycosylée issue de la production d'E.coli génétiquement modifié) et le lenograstim (forme glycosylée produite par les cellules tumorales d'ovaire de hamster chinois). Ces deux formes paraissent équivalentes en termes de potentiel de mobilisation des CSP et d'effets secondaires (cf plus loin). (3;43)

→ *Greffe autologue*

Les FCH, seuls (G-CSF) ou en association (G-CSF +SCF, G-CSF + GM-CSF …) peuvent être administrés sitôt la chimiothérapie terminée ou en différé de quelque jours mais jamais concomitamment à la chimiothérapie. En pratique, l'introduction du G-CSF de 5 à 6 jours avant la date du recueil parait amplement suffisant pour une mobilisation de qualité (10 à 20 cellules CD 34+/µl de sang) tout en préservant le confort du patient.

Les doses officiellement recommandées après une chimiothérapie de mobilisation sont de 5µg/kg/jour pour le filgrastim et de 150µg/m^2/jour pour le lenograstim. Les doses et la durée d'administration varient en fonction de la chimiothérapie préalablement reçue. Pour les protocoles ou le G-CSF est utilisé seul, la posologie est généralement de 10 µg/kg/jour en 1 ou 2 injections sous cutanée sur une période de 5 à 7 jours. La mobilisation des progéniteurs est le plus souvent effective entre le 4ème et le 6ème jour avec un pic observé eu 5ème jour.

Il existe une possibilité d'utiliser des « doses faibles » de filgrastim de l'ordre de 3µg/kg/jour permettant de garder la même efficacité sans augmenter le nombre de cytaphérèse nécessaire au recueil d'un greffon optimal chez des patients en théorie bon mobilisateurs (faibles ATCD,

absence d'infiltration médullaire majeure). Ces faibles doses permettent de minimiser les coûts et les effets secondaires.

A l'inverse, des études ont montrées que des « doses fortes » de filgrastim supérieures à 5µg/kg/jour permettent de mobiliser une plus grande quantité de CSP mais augmente sensiblement les coûts et les effets indésirables pour le patient. (3)

→ *Greffe allogénique*

La stimulation est également réalisée grâce au G-CSF pour atteindre un nombre de cellules CD 34+ dans le recueil de l'ordre de 2,5 à 5. 10^6 cellules/kg de poids du receveur. La plupart des centres utilisent la dose de 10µg/kg/jour pendant 4 à 5 jours. L'administration du G-CSF en 2 doses journalières est plus efficace que l'administration en dose unique. De ce fait, en France, le schéma d'administration le plus courant est de 5µg/kg/12 heures. (3)

Un nouvel agent, le pegfilgrastim, qui est la forme pégylée du filgrastim, possède des capacités notables de mobilisation des CSP. Il est essentiellement utilisé pour le traitement des neutropénies chimio-induites, et ne possède pas d'AMM en tant que FCH malgré sa facilité d'emploi en une injection unique et l'absence d'effet indésirables. Il donne de bon résultats pour les stimulations allogénique et autologue.
Depuis 2009, une nouvelle spécialité a obtenu une AMM dans le cadre d'une mobilisation des CSH vers le compartiment sanguin. Le Mozobil® (plérixafor) est un antagoniste des récepteurs CXCR4 (impliqué dans l'adhésion des cellules souches) et est utilisé en complément du G-CSF pour améliorer le recueil de CSP pour les greffes autologues. Les études ont montrés que l'association G-CSF + Mozobil® permettait à un plus grand nombre de patients d'obtenir les 10 cellules CD34+/µl de sang nécessaire au minimum pour le prélèvement avec un nombre réduit de séance de cytaphérèse. (3;41)

Les principaux effets indésirables liés aux stimulations par le G-CSF sont doses dépendantes. On retrouve des douleurs osseuses et musculaires, nausées, asthénie et des complications plus graves comme une splénomégalie pouvant aller jusqu'à une rupture de la rate, des accidents vasculaires thrombotiques et de poussées évolutives de pathologies auto-immunes. L'incidence de ces effets secondaires grave est de l'ordre de 1%. (3)

❖ Phase de recueil

Le recueil des CSP est réalisé par des méthodes de cytaphérèse, basée sur le principe que toutes les cellules sanguines n'ont pas la même masse et pourront donc être séparées par centrifugation.

La décision de recueillir des CSP se base sur la numération des cellules CD 34+ du sang circulant. Le nombre de 20 cellules CD34+/µl de sang est la valeur cible permettant d'obtenir avec une seule aphérèse 2 à $2{,}5.10^6$ CD34+ /kg, quantité minimale nécessaire à une reconstitution hématopoïétiques satisfaisante. Généralement, les équipes commencent le prélèvement a partir de 10 CD 34+/µl ce qui permet un recueil contenant 1.10^6 CD 34+/kg. Cependant, dans les cas d'autogreffe, lorsque les valeurs de CD 34+ circulantes sont comprises entre 10 et 20 µl, la décision du moment optimal pour le recueil sera déterminée en fonction de l'évolution de sortie d'aplasie du patient calculée grâce au nombre de globules blancs.

Le sang du donneur va suivre une circulation dite extra corporelle(CEC) dans un kit stérile à usage unique. Une poche de sang sera prélevée avec un débit de 50 à 70 ml/mn à partir d'une aiguille posée au pli du coude puis sera centrifugée. Les éléments sanguins seront séparés en fonction de leur densité et un capteur viendra prendre la couche de globule blanc où se trouvent les CSH. Le reste du sang sera réinjecté au donneur par l'autre bras.
Du calcium est ajouté sur la voie de retour car dans le circuit se trouve un anticoagulant, le citrate, qui permet d'éviter que le circuit ne se bouche. Il y a toujours un peu de citrate qui revient vers le donneur, sans danger puisqu'il ne peut pas entraîner de saignement mais il peut faire baisser le calcium sanguin. L'addition de calcium évite au donneur d'avoir des sensations de fourmillements aux extrémités, des crises de spasmophilie ou de tétanie.
L'obtention de greffon contenant un nombre satisfaisant de cellules CD 34+ est en général possible âpres 1 ou 2 aphérèses traitant 2 à 3 fois la masse sanguine en 3 heures environ.

Des cytopénies transitoires ont été rapportées dans les jours qui suivent le don, et plus rarement des cas de neutropénies. Des thrombopénies sont plus fréquemment observées et peuvent nécessiter une transfusion de plasma.
Les expériences d'un second don de CSP chez un même donneur ont montrées que les réserves en progéniteurs cellulaires n'étaient pas altérées. (3;43)

B.1.2. Contenu cellulaire des greffons

La composition des greffons de CSH issus du sang circulant et de la moelle osseuse est variable qualitativement et quantitativement. (cf. figure 33 et 34)

Lors d'une mobilisation par le G-CSF, le greffon obtenu contient environ 3 fois plus de cellules CD34+. Cette augmentation est à l'origine de la meilleure reconstitution hématopoïétique observée lors des greffes de CSP. De plus, le nombre de lymphocyte T (CD3+) est 10 fois supérieur dans un greffon de CSP par rapport à un greffon médullaire. Les patient reçoivent donc plus de 2.10^8 CD3+ /kg ce qui a pour conséquence de favoriser l'effet GvL et la prise de greffe mais en augmentant la survenue de la GvH.

On retrouve dans un greffon mobilisé par G-CSF une sous population lymphocytaire 10 fois plus élevé que dans les greffons médullaires. Les études ont montré que la normalisation du ration LT CD4+ / LT CD8+ est plus rapide dans les cas de greffe de CSP que dans les cas de moelle osseuse. Cela montre que la reconstitution hématopoïétique et immunitaire est accélérée. En revanche, les cellules des greffons de CSP présentent un plus faible niveau d'activation que celles des greffons de moelle osseuse. (20)

	Nombre cellules nécessaires Critères requis	Dans une poche	CD34 %	Lymphocytes CD3+
Moelle (allo)	CNT: 2.10^8/kg CFU-GM: 1 à 2.10^5/kg	Hte : 30% Volume initial: 500-1500cc Final: 10 à 20 ml/kg	1 à 1,5%	2,2%
CSP (allo et auto)	CD34+: 4.10^6/kg	Hte < 5% Volume final: 200 ml	1 à 7%	27%
Cordon	CNT: 2.10^7/kg	Hte : 5% Volume final: 100 ml	0,1 à 0,5%	0,4%

Figure 33 : Caractéristique des greffons de CSH. (37)

CNT: Cellules totales nucléées

Hte : hématocrite

Cellules	Greffon issu de la moelle osseuse	Greffon issu du sang circulant
CD34+	$2.3 \pm 0.4 \times 10^6$	$7.1 \pm 0.9 \times 10^6$
Leucocytes	$288 \pm 27 \times 10^6$	$1128 \pm 76 \times 10^6$
Monocytes (CD14+)	$7.4 \pm 1.3 \times 10^6$	$221.1 \pm 24.8 \times 10^6$
Lymphocytes	$66.3 \pm 7.5 \times 10^6$	$472.1 \pm 34.8 \times 10^6$
Lymphocytes B (CD19+)	$8.3 \pm 1.2 \times 10^6$	$70.1 \pm 10.3 \times 10^6$
Cellules NK	$4.8 \pm 1.0 \times 10^6$	$37.3 \pm 3.2 \times 10^6$
Lymphocytes T	$31.9 \pm 4.5 \times 10^6$	$338.8 \pm 27.5 \times 10^6$
Sous population lymphocytaire		
CD3+ CD4+	$15.1 \pm 2.1 \times 10^6$	$197.9 \pm 15.4 \times 10^6$
CD3+ CD8+	$14.2 \pm 2.1 \times 10^6$	$118.1 \pm 12.7 \times 10^6$
CD3+ CD45RA+	$16.2 \pm 2.6 \times 10^6$	$183.3 \pm 20.3 \times 10^6$
CD3+ RO+	$20.8 \pm 2.7 \times 10^6$	$203.0 \pm 17.4 \times 10^6$
CD3+ CD25+	$4.7 \pm 0.7 \times 10^6$	$45.3 \pm 6.2 \times 10^6$
CD3+ HLA-DR+	$3.0 \pm 0.6 \times 10^6$	$17.6 \pm 4.5 \times 10^6$

Figure 34: Numération des différents types cellulaires d'un greffon en fonction de sa source. (3)

Les résultats de ce tableau sont exprimés en nombre de cellules/ kg du receveur.

B.1.3.Traitement et conservation des greffons

Une fois le prélèvement terminé, il est acheminé vers une banque de stockage puis analysé pour déterminer le nombre de cellules prélevées. Si ce nombre n'est pas suffisant, un deuxième prélèvement est programmé pour le lendemain. Exceptionnellement, trois prélèvements peuvent être nécessaires. Chaque échantillon reçu est qualifié et soumis à différents contrôlés :

- *Numération des cellules nucléées* **:** réalisée par une technique automatique (hémogramme) et par une technique manuelle sur cellule de Malassez.
- *Viabilité* **:** Elle est déterminée par coloration au Bleu Trypan et/ou par incorporation de 7-AAD et permet de vérifier le nombre de cellules CD34+ viables, surtout pour les produits décongelés.
- *Numération des cellules CD34+* **:** L'analyse est réalisée par des techniques de cytométrie en flux.
- *Test clonogénique des progéniteurs CFU-GM :* Les cellules sont ensemencées dans un milieu semi-solide à base de méthylcellulose. Les cultures sont ensuite incubées à 37°C en présence de 5% de CO2 et en atmosphère humide pendant 14 jours. L'estimation du nombre et du type de colonies est réalisée au jour 14.
- *Contrôles bactériologique et fongique :* Elle consiste en une hémoculture automatique de 10 jours sur milieux aérobie et anaérobie.
  (3)

Ces qualifications sont un pré-requis obligatoire avant libération de la poche pour une utilisation thérapeutique.

Les cellules sont soit conditionnées à l'état frais (cas le plus fréquent en allogreffe), soit congelées dans un milieu comportant un cryoprotecteur. Pour les CSH issues de la moelle osseuse, elles seront préalablement traitée au moyen d'une série de filtres afin d'en retirer les fragments d'os ou de tissu.

Parfois, les greffons issus de la moelle osseuse ou du sang circulant peuvent, après leur recueil, subir une réduction du nombre de lymphocytes T. Cette technique, appelée déplétion en lymphocyte T, a pour objectif de minimiser le risque de survenue de GvH en conservant l'effet GvL.
De même, si le donneur et le receveur ont des groupes sanguins incompatibles, les globules rouges et/ou le plasma devront être retirés du greffon pour éviter toute réaction.
(44)

La méthode classique pour cryoconserver les CSH se fait dans de la vapeur d'azote liquide à -196°C jusqu'à la greffe. Plus récemment, une méthode simplifiée a été proposée qui consiste à utiliser du diméthylsulfoxyde (DMSO) à 5 % comme cryoprotecteur associé à une congélation directe dans un congélateur mécanique à - 80 °C. Cependant, à cette température, la durée de conservation ne peut dépasser 6 mois alors que dans l'azote liquide la durée de conservation pourrait atteindre plusieurs dizaines d'années.
Sur prescription nominative du médecin greffeur, la banque de cellule libère le produit. Le responsable médico-technique validera cette cession si l'ensemble des spécifications requises pour une distribution sont réunies (sérologies du donneur conformes, contrôles fonctionnels et contrôles microbiologiques conformes). La notion d'urgence permet sous certaines conditions de distribuer des produits non conformes. La notion de bénéfice/risque sera alors discutée en comité de greffe. Les greffons cellulaires sont décongelés à la banque de cellules qui se charge de leur conditionnement pour greffe.
(39;44;45;46)

B.1.4.Registres des donneurs de CSH de moelle osseuse et de CSP

A l'heure actuelle en France, les donneurs de CSH sont des volontaires, inscrits sur les registres nationaux de donneurs lorsqu'ils en font la demande et réalisent les démarches. Cette inscription doit être une décision personnelle réfléchie puisqu'elle implique un réel engagement de la part du donneur. En s'inscrivant, il accepte de se rendre disponible pour le prélèvement, d'informer le Registre France Greffe de Moelle de l'Agence de la biomédecine lors de changement concernant son état de santé ou son adresse et de donner pour n'importe quel patient en France comme à l'étranger

Il est très important de préciser que l'engagement du donneur peut être révocable à tout moment.

Pour être donneurs, les volontaires doivent satisfaire à de nombreux critères :

- ✓ Etre âgé de plus de 18 ans et de moins de 51 ans.
- ✓ Se savoir en bonne santé.
- ✓ Répondre à un questionnaire de santé.
- ✓ Faire des tests biologiques, qui permettront notamment de déterminer le groupe HLA.
- ✓ Accepter, comme l'exige la loi, l'anonymat entre le donneur et le malade.

De nombreux agents pathogènes transmis par le donneur peuvent contaminer le greffon et avoir des conséquences très graves pour le malade s'il est greffé (cf.figure 35). Il est donc indispensable de sécuriser au maximum en amont du prélèvement. Ainsi, avant l'inscription au registre un entretien médical avec le donneur est réalisé conjointement par le médecin responsable de la greffe et le médecin responsable du prélèvement. Le but est d'informer le donneur et de réaliser des prélèvements :

- un bilan d'aptitude (examen clinique et questionnaire médical) qui a pour but de détecter d'éventuelles contre-indications au prélèvement des CSH par cytaphérèse et/ou à l'injection de facteurs de croissance.
- une prise de sang pour déterminer le groupe sanguin, les sérologies virales, etc afin d'assurer la viabilité et la sécurité microbiologique du greffon.

Les principales contre indication à devenir donneur de cellules souches sont :

Les affections cardiaques, l'hypertension artérielle, les affections respiratoires, les maladies du système nerveux, les affections cancéreuses, les affections métaboliques (diabète, insuffisance hépatique), les traitements par anticoagulants, les antécédents de phlébite ou d'embolie pulmonaire, les affections neuromusculaires et certaines allergies.

Informations complémentaires sur le site de l'agence de la biomédecine :
www.dondemoelleosseuse.fr

Transmission of	Donor disease
Viruses	HIV / Hepatitis B and C / HTLV-1 / CMV / EBV / Parvovirus B19 / West Nile virus
Bacteria	Contaminants*(a)*/ Brucellosis
Parasites	Toxoplasmosis / Malaria / Leishmania / Babesia
Fungi	Candida / Aspergillus
Prions	Creutzfeld-Jakob disease*(b)*
Enzyme deficiencies	Gaucher's disease
Haemoglobinopathies	Thalassemia / Sickle cell anaemia
Autoimmune diseases	Myasthenia gravis / Atopy / Lupus erythematosus / Thyrotoxicosis / Diabetes mellitus type I / Sarcoidosis / Coeliac disease / Autoimmune thrombocytopenia
Haematological malignancies	AML / CML / T-cell lymphoma
Non-haematological malignancies *(c)*	Small-cell lung cancer from renal transplantation / Glioblastoma multiforme from liver transplantation

Figure 35 : Potentiel de transmission de maladie des greffons aux donneurs. (47)

De nombreuses maladies peuvent êtres transmises du donneur via son greffon au receveur. Des virus, des bactéries, des parasites, des champignons, des pathologies malignes peuvent entre autre contaminer le receveur déjà affaiblit par le conditionnement et lui causer des maladies très dangereuses.

B.2. Greffons issus de sang de cordon

B.2.1. Conditions de prélèvement

Le sang de cordon ombilical peut être collecté alors que le placenta est encore dans l'utérus, (méthode dite *in utero*) ou après que le placenta ai été expulsé de l'utérus (méthode dite *ex utero*).

Le cordon sera clampé à environ 5 cm de la région ombilicale de l'enfant puis sectionné. Après désinfection du lieu de prélèvement, 1 ou 2 aiguilles du dispositif de prélèvement de sang placentaire seront fixées dans la veine ombilicale au dessus du clamp en direction du placenta. Les contractions utérines faisant pression sur le placenta afin de l'expulser vont contribuer à vider celui-ci, via le cordon, directement dans la poche de prélèvement avec un volume moyen de 75 ml (entre 10ml et 250ml). Une fois que le sang est prélevé, un deuxième clamp est placé au dessus de l'aiguille et tout le dispositif est retiré. Le prélèvement doit être identifié et une fiche de traçabilité doit être remplie. (23)



Figure 36 : Dispositif de prélèvement de sang placentaire de type Maco Pharma. (23)

B.2.2. Contenu cellulaire des greffons de sang de cordon

Les greffons obtenus à partir de sang placentaire sont beaucoup plus faibles en volume et contiennent 10 fois moins de cellules nucléées que les greffons issus de la moelle osseuse et 20 fois moins que ceux issus du sang circulant. De plus le pourcentage de cellules CD34+ et de lymphocyte CD3+ contenu dans ce greffon est nettement inférieur à ceux des autres sources (de 5 à 75 fois moins pour les LT CD3+ et de 10 à 15 fois moins pour les CD34+).
Cette composition à pour avantage de rendre le greffon plus tolérant d'un point de vue d'histocompatibilité et réduit l'incidence et la sévérité des GVH. En revanche, la pauvreté en cellules CD34+ rend la prise de greffe plus lente, et augmente le risque de rejet.
(cf. figure 33) (37)

B.2.3.Traitement et conservation des greffons

Dès que le prélèvement est effectué et que le sang conditionné dans une poche, il doit être envoyé dans les 24 heurs à la banque de sang placentaire afin d'être stocké. Ce cours délais est nécessaire pour optimiser la conservation du greffon et explique la localisation des maternités collectrices à proximité des banques.

Une fois le prélèvement effectué, il est également nécessaire de procéder à une qualification biologique du recueil.
Le volume doit être supérieur ou égal à 80 ml et une numération en progéniteurs CD34+ supérieure ou égale à 2 x 106. Les tests de dépistage des maladies transmissibles réalisés sur les échantillons de sang veineux maternel prélevés concernent les mêmes agents infectieux que ceux recherchés dans le cadre du don du sang (syphilis, VIH, hépatites virales B et C, et les anticorps anti-HTLV1 et anti-HTLV2). Les autres tests réalisés sur le prélèvement de sang de cordon concernent la richesse en progéniteurs type CFU-GM ainsi que le typage HLA.

Pour éviter tout risque infectieux non détectable à la date du prélèvement, le sang de cordon est mis en quarantaine pendant au moins deux mois.
Il est néanmoins cryoconservée en azote liquide dans les 24 heures qui suivent le prélèvement additionné d'un cryoprotecteur, le DMSO, protégeant les cellules souches hématopoïétiques des effets de la congélation. Les poches sont ensuite descendues jusqu'à -120°C de manière

progressive pour atteindre -150°C. Elles sont conservées ainsi jusqu'à la sécurisation du greffon.
Lors de la visite post-natale du deuxième mois, un nouvel échantillon de sang de la mère est prélevé sur lequel sont renouvelés les tests de dépistage. Une séroconversion entraîne la destruction du greffon. De plus, lors de cette visite l'enfant est examiné pour s'assurer de l'absence de toute pathologie.

Chaque greffon validé est inscrit avec les résultats de son typage HLA sur les fichiers nationaux et internationaux des donneurs de moelle gérés par l'Agence de la Biomédecine.
L'interrogation des fichiers est déclenchée par l'équipe de greffe et se fait sur le même mode que pour les volontaires au don de moelle. La recherche d'un sang de cordon pour le patient doit prendre en compte le degré de compatibilité du typage HLA entre le donneur et le patient. (45)

B.2.4. Registres des donneurs de CSH

Le don de sang de cordon est une démarche volontaire, anonyme et gratuite effectuée généralement lors d'une grossesse. Elle devra remplir un formulaire de consentement écrit après une décision libre et éclairée. Il est important de préciser que cet engagement est révocable à tout moment. Si la femme enceinte est consentante, elle devra répondre à un questionnaire médical prénatal permettant de vérifier avant la naissance que le prélèvement pourra avoir lieu, et que l'unité pourra entrer dans le circuit de validation du greffon.

Cinq conditions sont nécessaires à la réalisation de ce don :

- La patiente devra rencontrer un médecin spécialiste pendant la grossesse (7ème mois).
- L'accouchement devra dérouler dans une maternité habilitée. (cf. figure 37)
- Un examen clinique du bébé à la naissance et à partir de l'âge de 3 mois sera effectué.
- Une analyse du sang maternel en vue de dépister une éventuelle maladie infectieuse devra être autorisée et à la visite du 2ème mois.
- Informer l'équipe médicale en cas de maladie grave.

Il existe de nombreuses contre-indications à ce don qui peuvent être liées aux parents ou au bébé :

Liées à la mère :

- Pathologies gynéco-obstétricales (grossesse multiple, condylomes ...).
- Pathologies infectieuses (streptocoque génital, valvulopathie ...).
- Antécédents d'affections malignes non guéries (cancers, leucémies, néoplasie ...).
- Maladies génétiques ou anomalies génétiques constitutionnelles (myopathie, mucoviscidose ...).
- Maladies auto-immunes (polyarthrite rhumatoïde, sarcoïdose ...).
- Maladies cardiaques.
- Maladies endocriniennes (diabète de type 1, hypercholestérolémie traitée...).
- Pathologies hématologiques (Anomalies de l'hémostase avec risque hémorragique …).
- Pathologies neurologiques (neuro-dégénératives, sclérose en plaque, épilepsie, syndrome dépressif ...).
- Sociaux culturelles (mineures, tutelle, conduites addictives ...).

Liées aux pères :

- Père inconnu.
- Maladies génétiques ou anomalies génétiques constitutionnelles.

Liées au nouveau-né :

- Développement intra-utérin (retard de croissance, souffrance fœtale).

Liées à l'accouchement :

- Terme < 37 semaines.
- Température maternelle > 38.5°C.
- Liquide amniotique méconial.
- Rupture de la poche des eaux > 33 heures.
- Souffrance fœtale aigüe.

(40)

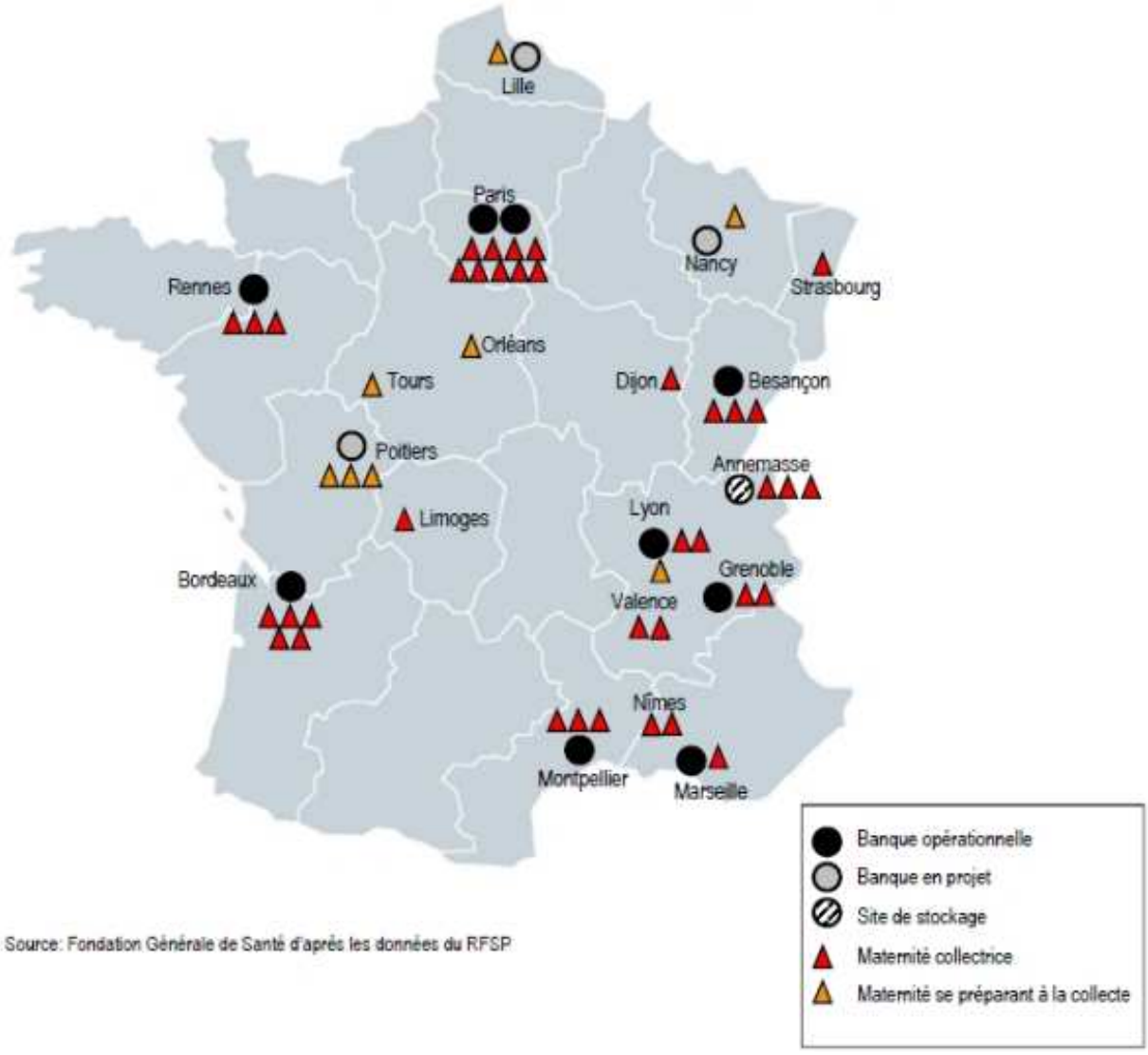


Figure 37 : Réseau francais de sang placentaire (Avril 2011). (40)

Tableau récapitulatif

	Avantage	Inconvénient
Conditionnement		
Intensifié	Moins de récidives	Plus de toxicité
Réduit	Moins de toxicité	Plus de récidives
Source de cellules souches		
Moelle osseuse	Moins de cas de GvHD chronique	Prise lente
		Risque accru de rejet
Cellules souches périphériques	Prise plus rapide	Plus de cas de GvHD
	Moins de rejets	
Sang de cordon ombilical	Disponibilité rapide	Faible nombre de cellules
	Moins de cas de GvHD	Plus de rejets
	Moins d'exigence de compatibilité HLA	Prise lente
		Impossibilité de transfuser des lymphocytes du donneur
Type de donneur		
Autologue	Pas de complications immunologiques – pas de rejet – pas de GvHD	Risque accru de récidive
Allogénique	Cellules souches saines	Complications immunologiques – rejet – GvHD
	Moins de récidives	
Prévention/traitement de la GvHD		
Intensifié	Moins de cas de GvHD	Plus de récidives
Réduit	Moins de récidives	Davantage de cas de GvHD
	Davantage d'effet GvL	Plus de toxicité

Figure 38 : Avantages et inconvénients des différentes méthodes de transplantation. (22)

C. Différents protocoles de greffe

C.1.Choix du greffon

C.1.1. Rappels immunologiques

C.1.1.1. Système HLA ou complexe majeur d'histocompatibilité

Le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) désigne en immunologie un système de reconnaissance entre les cellules du « soi » et du « non-soi ».
Chez l'être humain, le CMH est formé par l'ensemble des Antigènes des Leucocytes Humains (système HLA) codés par des gènes situés sur le bras court des chromosomes 6 et qui s'expriment principalement à la surface des cellules immunocompétentes (mais pas uniquement) sous la forme de glycoprotéines transmembranaires.
Le système HLA possède un polymorphisme tel qu'il ne peut pas être identique chez deux individus étant donné le nombre d'allèles et de configurations possibles (sauf cas des vrais jumeaux). On estime que 10 à 30 % des personnes vivants dans le monde possèdent un code HLA qui leur est entièrement propre et qu'aucun autre être humain ne le partage.
Malgré ces grandes différences individuelles, lors d'une greffe, les codes HLA du donneur et ceux du receveur doivent être les plus proches et similaire possible afin de permettre aux cellules du donneur de prendre place dans le corps du receveur sans pour autant déclencher une réaction immunitaire de rejet. Dans le cadre de la greffe de CSH, le système immunitaire du receveur est souvent très affaibli ou inexistant, ce qui facilite la prise de la greffe. Ce n'est pas lui qui va être à l'origine de la réaction entre le receveur et le donneur, mais ce sont les cellules greffées du donneur, qui vont attaquer les tissus du receveur, perçus comme hostiles, comme du « non-soi ».

Il existe deux types de molécules HLA :
- les molécules HLA de classe I (HLA-A, B et C) qui sont présentes sur toutes les cellules de l'organisme, à l'exception des hématies et des cellules germinales. Elles sont codées par des gènes situés sur le bras court du chromosome 6. Ces cellules portant ces molécules HLA de classe 1 présentent leurs déterminants antigéniques aux lymphocytes T CD8+ qui vont, si nécessaire détruire ces cellules soit parce qu'elles n'appartiennent pas au même organisme (cas des greffes), soit parce qu'elles abritent un agent pathogène, ce qui évite qu'il ne se développe dans l'organisme.

- les molécules HLA de classe II (DRA, DRB, DQ, DPA1 et DPB2) sont présents sur les lymphocytes B, les monocytes et les macrophages. Elles sont également codées par des gènes du bras court du chromosome 6. Elles vont présenter les déterminants antigéniques aux lymphocytes T CD4+ qui jouent un rôle fondamental dans la réponse immunitaire en stimulant la prolifération des lymphocytes B et induire leur différenciation en plasmocytes producteurs d'anticorps. Ils vont également stimuler la prolifération et l'activation des lymphocytes T CD8+. (21;25;47;48)

C.1.1.2. Les antigènes mineurs d'histocompatibilité

Ces antigènes mineurs d'histocompatibilité sont tous les antigènes d'histocompatibilité qui ne font pas partie du CMH. Ils s'expriment principalement sur cellules endothéliales vasculaires et sur les monocytes du donneur

Ce sont entre autre les antigènes HA-1, HA-2, HA-3, HA-4, HA-5, HA-8 et une protéine nommé H-Y qui sont codés par le chromosome Y.

On sait à l'heure actuelle que même si le CMH joue un rôle majeur dans les mécanismes d'histocompatibilité, un rejet peut survenir à cause de ces antigènes mineurs qui vont être reconnus par les lymphocytes T du donneur. Ils sont codés par des gènes du chromosome Y, indépendamment donc du CMH. (21)

C.1.2. Greffons autologues

Pour les greffes autologues, seules les CSH issues de la moelle osseuse et les CSP sont utilisées en pratique. Le choix de prélever d'un prélèvement médullaire ou sanguin est établi selon de très nombreux critères dépendant entre autre du patient et de sa maladie.

La moelle osseuse n'est pas le choix de première intention pour le recueil des CSH autologues. Généralement, ce choix fait suite à une impossibilité ou une insuffisance des méthodes de cytaphérèse pour les CSP. Le nombre de prélèvements chez des patients adultes en vue d'une autogreffe s'est stabilisé entre 2006 et 2008 autour de 45 prélèvements/ an après 10 années de diminution. Les données de 2009 ont montré une chute à 32 prélèvements /an.

Chez l'enfant, le nombre de recueil ne cesse de chuter en passant de 102 en 1997 à 13 en 2009. (24)

Les prélèvements de CSP par cytaphérèse en vue d'une autogreffe est la méthode la plus utilisée actuellement en France. Les données sont stables depuis quatre ans avec en moyenne 1,9 cytaphérèses par patient. (cf. figure 39)
En pédiatrie, l'évolution est également stable avec 4,9% des recueils de CSP en 2009 et 2008 et de 5,5% en 2007. Cela représente 282 prélèvements pour 171 mineurs de moins de 18 ans. (24)

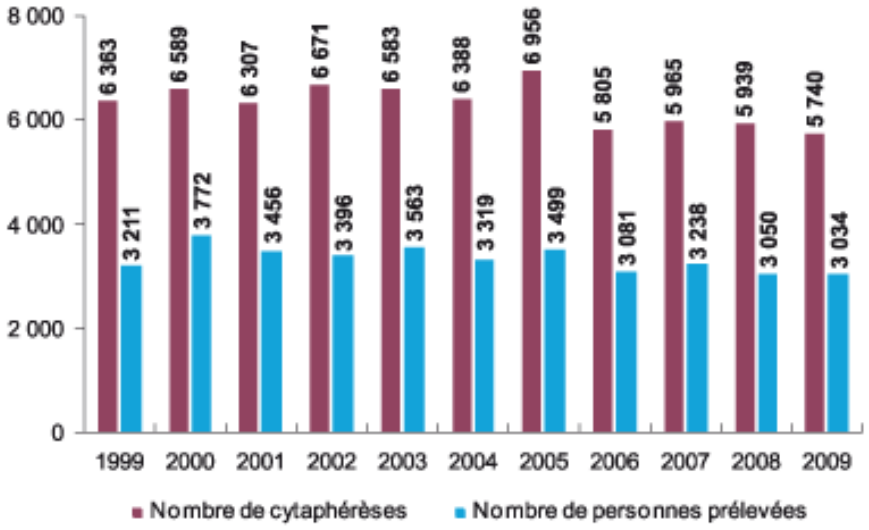


Figure 39 : Evolution de l'activité de cytaphérèse en vue d'autogreffe. (24)

C.1.3. Greffons allogéniques

Lors du protocole de greffe, la compatibilité entre le donneur est le receveur est un point essentiel afin d'éviter tout rejet. Les équipes médicales disposent de 2 sources pour obtenir un greffon le plus compatible possible ; soit se tourner vers un donneur de la même famille que le patient, soit utiliser le registre des donneurs ou la banque de sang de cordon.

C.1.3.1. Donneur familial

La meilleure compatibilité HLA provient de jumeaux homozygotes puisqu'ils ont le même patrimoine génétique.

Habituellement, c'est vers un frère ou une sœur du receveur que l'on se tourne pour le prélèvement puisque c'est eux qui ont le plus de chance d'être porteur des mêmes antigènes HLA (donneur HLA identique ou géno-identiques).

Les gènes HLA sont dominants, transmis des parents aux enfants en bloc, par haplotypes entiers. De ce fait, il ne peut exister que 4 haplotypes différents au sein d'une même famille. (cf. figure 48)

Si l'in rapporte cette probabilité au nombre moyen d'enfants par famille en France, un peu moins de 30 % des receveurs potentiels de CSH ont un donneur HLA-identique dans leur famille. (21)

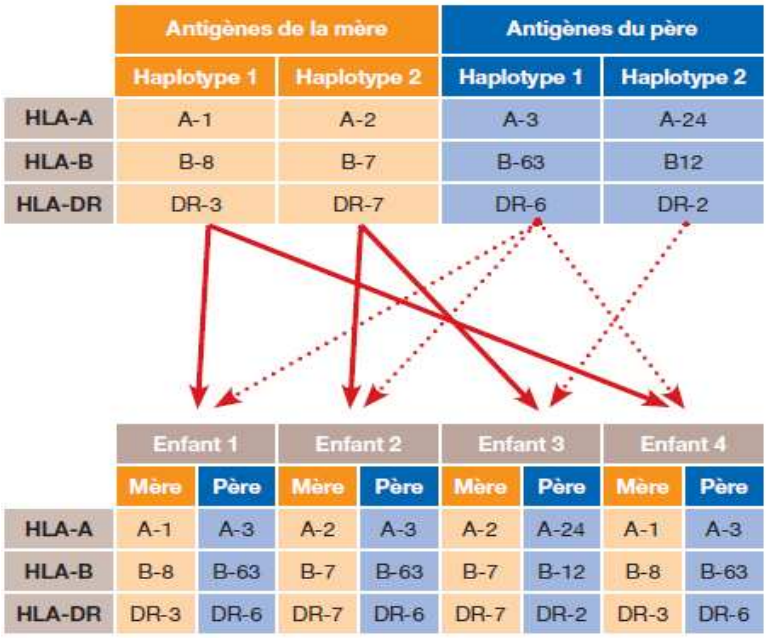


Figure 40 : Représentation de la transmission familiale des antigènes principaux du système HLA. (21)

C.1.3.2. Donneur issu des registres.

Les chiffres montrent que lorsqu'au minimum les 8 allèles du système HLA sont compatibles, le taux de survie à 5 ans après la greffe était légèrement moindre pour les donneurs non apparentés par rapport aux donneurs apparentés (54 % vs 63 %, une différence significative). Lorsqu'un seul allèle n'est pas compatible, ceci entraîne un taux de survie nettement plus faible (survie à 5 ans de 30 à 43%).

Les différents registres internationaux de donneurs de CSH sont regroupés dans le BMDW (Bone Marrow Donors Worldwide). On y retrouve 66 registres de donneurs de CSH de 47 pays différents, et 48 registres de banques de sang de cordon provenant de 28 pays. Les registres internationaux comptent au total 17 744 623 donneurs de CSH (données du 23/05/11).

Pour la France, le registre français est constitué de 190 090 donneurs dont 85% sont typés pour les *loci* A, B et DR. Le registre français du sang de cordon est constitué de 12 265 cordons, dont la majorité est typé pour les groupes HLA.

Les Etats Unis possèdent le fichier le plus important avec 6 128 987 donneurs de moelle osseuse et de CSP et 102 797 donneurs de sang de cordon. L'Allemagne est en deuxième position avec 4 221 643 de moelle osseuse et de CSP et 9 970 donneurs de sang de cordon. (49)

Par conséquent, trouver un donneur aussi compatible que possible est essentiel à la réussite de la greffe de moelle osseuse. Pour les donneurs non apparentés, les nouvelles techniques de typages et les méthodes de recherche basés sur différents algorithmes permettent de limiter les problèmes d'histocompatibilité en sélectionnant les donneurs les plus compatibles possibles. (21;49)

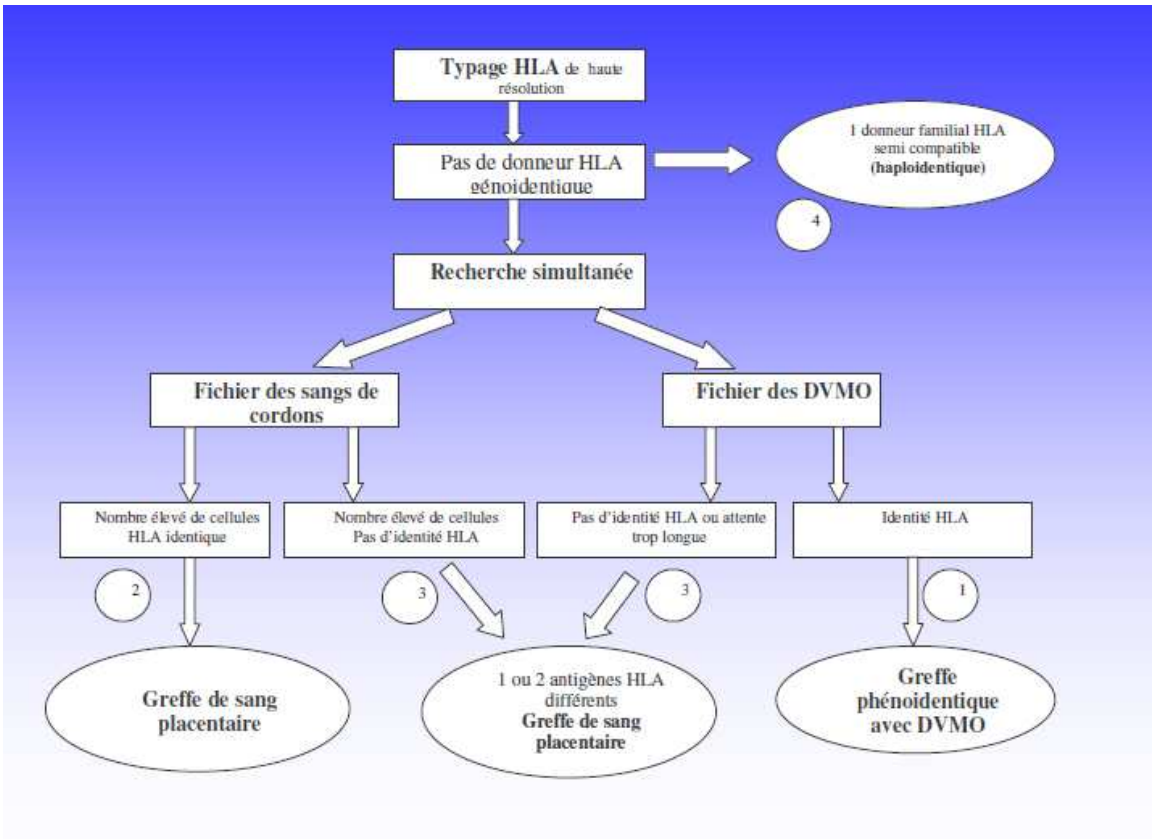


Figure 41 : Algorithme pour la recherche d'un donneur. (39)

DVMO : donneur volontaire de moelle osseuse

Lorsqu'une greffe est décidée, le patient va subir les examens pour déterminer son typage HLA. Dans un premier temps, les médecins vont se tourner vers la famille pour savoir s'il existe des donneurs volontaires. Leur typage HLA sera ensuite déterminé. Si le donneur de la famille est compatible, c'est lui qui fournira le greffon. Si personne de la famille n'est compatible, il faudra se tourner vers les registres de donneurs et les banques de sang de cordon. Le greffon sélectionné sera celui possédant le plus de molécules HLA compatibles avec le receveur.

C.2. Conditionnement pré-greffe du receveur et risques associés.

Actuellement en France, les conditionnements myéloablatifs s'utilisent majoritairement dans les greffes autologues. Ce conditionnement, très intenses ont pour but de débarrasser le plus possible l'organisme des cellules tumorale et permettent une myélosuppression quasi-totale. Ce « nettoyage » est essentiel pour la prise de la greffe autologue puisque l'on n'aura pas d'effet GvL du greffon puisque le donneur et le receveur sont les mêmes personnes.

L'utilisation des conditionnements non-myéloablatifs ou à intensité réduite se retrouvent plutôt dans les greffes allogéniques et connait une nette augmentation depuis 10 ans. (cf. figure 42) Le greffon du donneur aura un effet GvL qui luttera contre les cellules cancéreuses restantes. On peut donc se permettre une intensité de conditionnement plus faible et moins immunosuppressive.

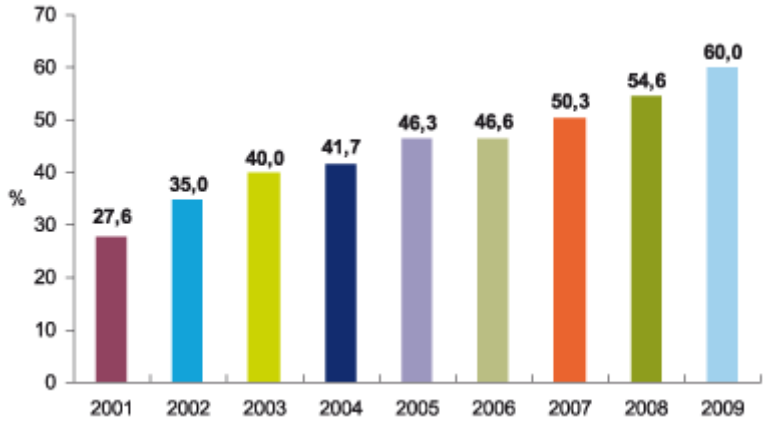


Figure 42 : Evolution du pourcentage d'allogreffes de CSH réalisées après un conditionnement non myéloablatif par rapport au nombre total d'allogreffes. (24)

C.2.1. Greffe autologue et conditionnement myéloablatif

Le conditionnement myéloablatif comprend l'administration préalable d'une chimiothérapie aux doses maximales efficaces qui peut être ou non associée à une irradiation corporelle totale. L'objectif est d'obtenir chez le malade :

- Une immunosuppression nécessaire à la prise de greffon et à la prévention du rejet de greffe.
- la destruction de son système hématopoïétique afin de supprimer le potentiel malin et d'assurer l'aplasie médullaire. Des doses maximales sont utilisées pour dépasser le seuil de résistance tumoral.
- Le rétablissement d'une hématopoïèse normale dans les cas d'aplasies médullaires. (50)

Pour les greffes autologues, le conditionnement aura lieu après le prélèvement des CSH.
(cf. figure 19)
Classiquement, le malade est hospitalisé l0 jours avant la date de la greffe, dite jour 0. La décontamination digestive et les différentes prophylaxies médicamenteuses sont débutées. Le conditionnement myéloablatif est débuté environ 8 jours avant le jour 0 et comportera le plus souvent :

- une irradiation corporelle totale de 10 Gy en dose unique ou 12 Gy en doses fractionnées.
- une chimiothérapie, essentiellement à base de cyclophosphamide (60mg/kg pendant 2 jours). D'autres cytotoxiques peuvent être administrés comme la cytarabine ou l'étoposide. (51)

Il existe de nombreuses variantes selon l'indication de la greffe et les protocoles locaux. (cf. figure 43) (24)
De plus, l'utilisation de conditionnements purement chimiques à base de busulfan se développe depuis une dizaine d'année car ils permettent une meilleure activité anti-leucémique et une moindre toxicité (50;51)

Table 1: **Conditioning regimens**

Regimen	Total Dose	Daily Dose	Administration	Days
• Conventional "old" regimens				
Cy/TBI				
Cyclophosphamide	120 mg/kg	60 mg/kg	IV in 1 hour	-6, -5
Total Body Irradiation	12–14.4 Gy	2–2.4 Gy (2x/day)		-3, -2, -1
Bu/Cy				
Busulfan	16 mg/kg	4 mg/kg*	p.o. q 6 hour	-9, -8, -7, -6
Cyclophosphamide	200 mg/kg	50 mg/kg**	IV in 1 hour	-5, -4, -3, -2
BACT				
BCNU	200 mg/m²	200 mg/m²	IV in 2 hours	-6
ARA-C	800 mg/m²	200 mg/m²	IV in 2 hours	-5, -4, -3, -2
Cyclophosphamide	200 mg/kg	50 mg/kg	IV in 1 hour	-5, -4, -3, -2
6-Thioguanine	800 mg/m²	200 mg/m²	p.o	-5, -4, -3, -2
• Alternative "standard" regimens				
TBI/VP				
Total Body Irradiation	12–13.2 Gy	2–2.5 Gy (2x/day)		-7, -6, -5, -4
Etoposide	60 mg/kg	60 mg/kg	IV in 2 hours	-3
AC/TBI				
ARA-C	36 g/m²	3 g/m²	IV q 12 hours in 2 h	-9, -8, -7, -6, -5, -4
Total Body Irradiation	12 Gy	2 Gy (2x/day)		-3, -2, -1
MEL/TBI				
Melphalan	110–140 mg/m²	110–140 mg/m²	IV in 1 hour	-3
Total Body Irradiation	10–14.85 Gy	2 Gy (2x/day)		-2, -1, 0
Bu/Cy				
Busulfan	16 mg/kg	4 mg/kg*	p.o. q 6 hours	-7, -6, -5, -4
Cyclophosphamide	120 mg/kg	60 mg/kg	IV in 1 hour	-3, -2
Bu/MEL				
Busulfan	16 mg/kg	4 mg/kg*	p.o. q 6 hours	-5, -4, -3, -2
Melphalan	140 mg/m²	140 mg/m²	IV in 1 hour	-1
• Intensified regimens				
Cy/VP/TBI				
Cyclophosphamide	120 mg/kg	60 mg/kg	IV in 1hour	-6, -5
Etoposide	30–60 mg/kg	30–60 mg/kg	IV in 2 hours	-4
Total Body Irradiation	12–13.75 Gy	2–2.25 Gy (2x/day)		-3, -2, -1
TBI/TT/Cy/ATG				
Total Body Irradiation	13.75 Gy	1.25 Gy (3x/day)		-9, -8, -7, -6
Thiotepa	10 mg/kg	5 mg/kg	p.o. q 6 hours	-5, -4
Cyclophosphamide	120 mg/kg	60 mg/kg	IV in 1 hour	-3, -2
ATG**	120 mg/kg	30 mg/kg	IV in 5–6 hours	-5, -4, -3, -2
Bu/Cy/MEL				
Busulfan	16 mg/kg	4 mg/kg*	orally every q 6 hours	-7, -6, -5, -4
Cyclophosphamide	120 mg/kg	60 mg/kg	IV in 1 hour	-3, -2
Melphalan	140 mg/m²	140 mg/m²	IV in 1 hour	-1
• Reduced intensity regimens				
TBI/Fluda				
Total Body Irradiation	2 Gy	2 Gy		0
Fludarabine	90 mg/m²	30 mg/m²	IV in 30 min	-4, -3, -2
Fluda/Bu/ATG				
Fludarabine	180 mg/m²	30 mg/m²	IV in 30 min	-10 to -5
Busulfan	8 mg/kg	4 mg/kg*	p.o. q 6 hours	-6, -5
± ATG**	40 mg/kg	10 mg/kg	IV in 8–10 hours	-4, -3, -2, -1

<u>Figure 43 : Exemple de protocoles pouvant être utilisés lors des conditionnements pré-greffe.</u> (47)

On retrouve dans ce tableau des exemples de protocoles conventionnels d'utilisation ancienne, de protocole standard alternatif et également de protocoles myéloablatif (ici intensified regimens) et de protocole d'intensité réduite.

Au-delà de leur impact sur le système immunitaire, les chimiothérapies myéloablatives peuvent toucher et affaiblir d'autres organes.
C'est pourquoi avant de débuter le processus de greffe le malade effectuera un bilan fonctionnel complet afin de s'assurer que son organisme pourra supporter la toxicité de la chimiothérapie. (38;51)

Ainsi il faut prévoir différentes complications :

Complications rénales
L'élimination de certains chimio-toxiques, immunosuppresseurs et antibiotiques utilisés dans ce conditionnement se fait par les reins qui sont donc particulièrement exposés. Dans certains cas, leur capacité d'élimination peut être insuffisante et causer l'apparition d'une insuffisance rénale. Le recours à la dialyse est alors nécessaire afin d'éliminer les produits toxiques et éviter leur accumulation chez le patient.

Complications pulmonaires
Une atteinte pulmonaire peut apparaitre du fait de la forte pénétration des produits de chimiothérapie ou de radiothérapie dans les tissus pulmonaires et peut conduire à une insuffisance respiratoire et un syndrome de détresse respiratoire aiguë. Il est donc nécessaire d'évaluer la fonction pulmonaire lors du bilan pré-greffe et s'assurer que le patient fumeur cesse tout tabagisme afin de réduire les risques de complications.

Complications cardiaques
Comme pour les poumons, les cellules cardiaques font subir l'impact des produits du conditionnement d'autant plus grave qu'une fois endommagées, elles ne peuvent se régénérer. Le bilan pré-greffe devra également comporter un bilan cardiaque approfondi.

Risque infectieux
Le conditionnement induit chez le malade un déficit immunitaire cellulaire et humoral transitoire qui le rend particulièrement vulnérable aux infections. Le maintien du malade dans un environnement le plus propre possible est donc nécessaire.

Infertilité

Les cellules reproductrices sont facilement atteintes par la chimiothérapie, rendant les cas de stérilité post-greffe très importants. Les patients envisageront avec leur médecin le maintien de leur capacité de procréation par la conservation de sperme ou d'ovules.

Le plus souvent, et du fait de sa toxicité, ce conditionnement myéloablatif est réservée à des patients jeunes : ≤ 55 ans en cas de donneur familial et ≤ 50 ans en cas de donneur non apparenté.

C.2.2. Conditionnement non-myéloablatif

Il a été démontré que le conditionnement, si intense soit-il, ne peut à lui seul éradiquer la totalité des cellules malignes chez un malade. L'augmentation de l'intensité du conditionnement ne fait apparaître aucun bénéfice si ce n'est une plus grande toxicité.

De plus, avec la mise en évidence de l'effet GvL et du rôle curatif majeur du greffon contre la maladie, l'idée de conditionnements essentiellement immunosuppresseurs et non plus myéloablatifs s'est rapidement imposée. L'objectif est d'une part la création d'une chimère hématopoïétique (état de tolérance induit où coexistent les systèmes hématopoïétiques du donneur et du receveur), responsable d'un effet immunologique du greffon contre les cellules normales et tumorales du patient et d'autre part d'induire un état d'immunosuppression qui va permettre au patient de supporter la greffe en minimisant la GvH et le risque de rejet.

De là sont apparues à la fin des années 90 les nouvelles techniques dite de greffe à conditionnement atténué ou greffe à conditionnement non myéloablatif ou encore mini-greffe. (38;50;51;52)

Ces conditionnements non myéloablatifs utilisent des agents de chimiothérapie seuls ou en association, qui peut être ou non complété par une radiothérapie. Leur intensité peut aller de très faibles doses ayant peu d'effets myélosuppresseurs et totalement réalisables en ambulatoire jusqu'à des doses fortes, mais moindre par rapport aux conditionnements classiques, réalisés généralement lors d'une hospitalisation en environnement protecteur. (52)

La réalisation de minigreffes permet d'obtenir un chimérisme qui est initialement mixte avec de 5 à 95% de cellules hématopoïétiques du donneur et une tolérance mutuelle des cellules du donneur et du receveur.
Il est maintenant bien démontré qu'un chimérisme mixte qui persiste est associé à un risque augmenté de rechute chez les patients greffés. Il doit être converti en chimérisme complet du donneur, en autre par l'injection de lymphocytes du donneur (DLI) afin favoriser l'effet GvL. Ces lymphocytes sont prélevés par cytaphérèses chez le donneur puis réinjectés en une seule fois ou par paliers de doses croissantes au patient receveur qui les tolèrent car les cellules immunitaires présentent chez celui-ci sont le plus souvent et en majorité celles du donneur. La quantité de lymphocytes injectés varie de 1x10^7 à 2x10^8 de CD3 par kilo de poids du receveur. (50) (cf. figure 44)
Le chimérisme complet du donneur permet une régression de la maladie du receveur par augmentation de l'effet GvL.

Pour ce qui et des effets indésirables, le conditionnement non myéloablatif provoque moins de toxicité de grade III et IV et moins de GvH aiguë que le conditionnement myéloablatif. La mortalité à 1 an non liée à la rechute est plus faible chez les receveurs d'une mini-greffe.
Cette procédure a montré une réduction considérable de la morbidité à court terme et de la mortalité rendant cette thérapeutique accessible à des patients qui en étaient privés jusque là. Néanmoins la GvH aiguë et le risque infectieux demeurent des complications majeures de ces conditionnements.
(44;50;51;52)

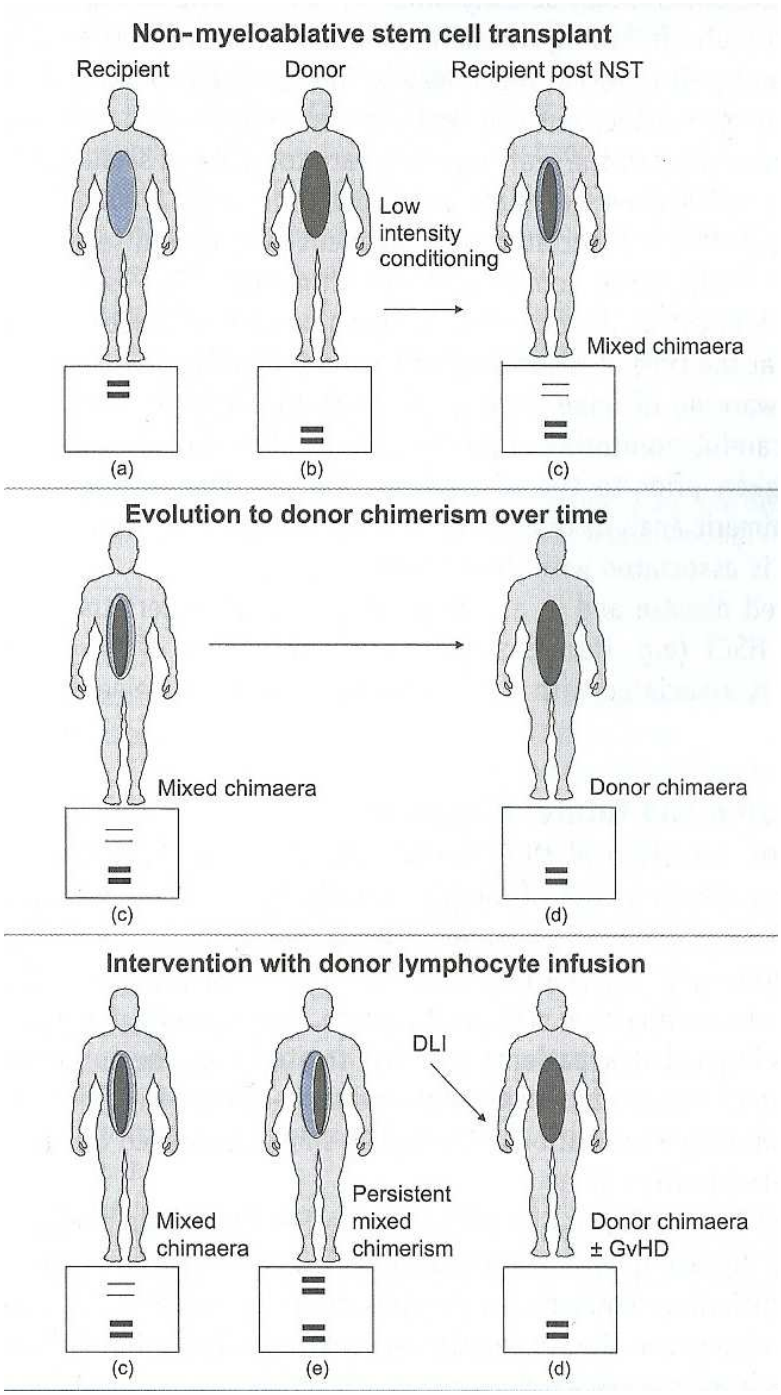


Figure 44 : Chimérisme obtenu après une greffe non myéloablative de CSH. (47)

Ce schéma montre le receveur (a) et le donneur (b) de l'allogreffe. Lors d'un conditionnement à intensité réduite, il se forme un chimérisme mixte ou prédomine les cellules du donneur (c). Avec le temps, cela conduire à un chimérisme complet du donneur (d). La persistance du chimérisme mixte va nécessiter une DLI (e) pour convertir le receveur à une chimère complète du donneur (d).

C.3. Protocole d’administration du greffon et surveillance clinique

C.3.1. Greffe des CSH

Avant l’administration des greffons préalablement collectés et conservés, il faut décongeler les CSH qui ont été cryoconservée. Cela se fait par un réchauffement rapide au bain marie a 37°c ou 40°c puis par un lavage du greffon pour éliminer le DMSO toxique pour l’Homme si il est injecté. (39)

L’administration du greffon est réalisée de manière assez simple et est identique quel que soit son origine (moelle osseuse, sang circulant ou sang de cordon).La procédure ressemble à une transfusion sanguine, mais doit être administrée dans un gros vaisseau sanguin grâce à un cathéter central placé au niveau de la cage thoracique. (44)

Dans les cas d’allogreffes des CSH provenant de la moelle osseuse du donneur, la greffe se fait généralement 24 heures après le prélèvement.
Le plus souvent il n’y a qu’une seule perfusion des CSH du donneur mais le nombre dépend du receveur (poids, pathologie,…) et peut être augmenté si cela est nécessaire. Toute l'opération, dure 15 à 20 minutes mais la perfusion en elle-même dure environ 5 minutes.
Les effets secondaires qui peuvent être rencontrés et qui sont dû à la faible quantité de DMSO restant dans le greffon sont des vertiges légers, des sensations de picotement dans les mains et les pieds, des maux de tête, des refroidissements, des tremblements et des crampes musculaires mais cela est rare. Tous ces effets sont temporaires et disparaîtront quelques minutes à quelques heures après la perfusion.

Généralement, la prise de la greffe est effective entre deux et cinq semaines et s’observe avec l’augmentation des globules blancs du sang circulant. Jusqu'à ce que les CSH greffées rétablissent les fonctions de la moelle, des transfusions de globules rouges et de plaquettes sont réalisées. Durant cette période, le patient est étroitement surveillé au moyen d’examens physiques, d’analyses sanguines, d’examens d’imagerie médicale et d’autres tests, afin de s’assurer que les principaux organes, comme le cœur, les poumons, les reins et le foie, fonctionnent normalement. (44)
(44;53)

C.3.2. Traitements associés

C.3.2.1. Les médicaments immunosuppresseurs

Dans les cas de greffes allogénique, le plus gros risque post-greffe auquel doit fait face le receveur est le risque de rejet du greffon. Afin de l'éviter, des traitements immunosuppresseurs sont mis en place des l'administration du greffon dans le but d'inhiber l'activation et la prolifération des lymphocytes T, qui sont les cellules responsables du rejet. Malheureusement, ce blocage n'est pas spécifique et affaiblit également les défenses de l'organisme déjà diminuées chez le receveur du fait du conditionnement. Pour les greffes autologues ou les greffes allogénique à partir d'un jumeau, ces traitements ne sont pas nécessaires car le risque de rejet du greffon est nul. (cf. plus haut)

Les patients greffés doivent suivre un protocole de traitement combinant plusieurs molécules avec différents modes d'action, variable en fonction de la pathologie, du malade, du temps écoulé depuis la greffe … Ce sont ces traitements qui conditionnent la survie et la qualité de vie du receveur. La combinaison médicamenteuse est adaptée en fonction du type de greffe, de l'état du patient et de sa tolérance aux médicaments.

Actuellement, plusieurs classes d'immunosuppresseurs sont disponibles en France :

- Modulateurs de cytokines : avec les inhibiteurs de la calcineurine (ciclosporine, tacrolimus) et les inhibiteurs de l'action des cytokines (sirolimus).
- Antiprolifératifs (antipurines) : avec l'azathioprine (imurel), le mycophénolate mofétil (Cellcept®)
- Anticorps anti-lymphocytaires : avec les anticorps anti-récepteurs à l'interleukine 2 (anti-IL2R) (basiliximab : Simulect®)
- Corticostéroides : (prednisone, prednisolone)

Ces médicaments immunosuppresseurs ont de nombreux effets indésirables. Ils rendent l'organisme plus vulnérable aux infections (virales, bactériennes, fongiques) et aux tumeurs cancéreuses. L'adaptation du traitement année après année et la lutte contre les pathologies opportunistes astreignent chaque personne greffée à un suivi médical à vie. (24;54)

C.3.2.2. Prévention des infections

Des infections bactériennes, virales et fongiques très nombreuses peuvent contaminer le receveur immunodéprimé. Pour éviter au mieux ces infections, des traitements prophylactiques sont mis en place après la greffe. (55)

Voici quelques exemples de traitement prophylactiques pouvant être mis en place :
*Prévention primaire de l'aspergillose par l'Itraconazole.
*Prévention primaire des infections à CMV et à HSV par l'Aciclovir ou le Valaciclovir.
*Prévention primaire des varicelles et des zonas par l'Aciclovir.
*Prévention primaire des infections à adénovirus par le Cidofovir.
L'ensemble de ces traitements de prévention des risques post-greffe sont très lourd pour le malade mais nécessaire à sa survie et à sa guérison.

C.3.3. Surveillance et suivi post greffe.

Généralement, la durée de l'hospitalisation est de quelques semaines, le patient poursuivra son rétablissement chez lui. Ce délai est très variable selon les cas.
Le patient peut quitter l'hôpital lorsque le taux sanguin de plaquettes, de globules rouges et de globules blancs sanguin est remonté à un niveau satisfaisant, s'il n'y a pas de complications graves liées au traitement, de fièvre ou de troubles digestifs et si le patient est assez rétabli pour manger et s'hydrater seul sans aide entérale. Le plus souvent, le patient quitte l'hôpital avec son cathéter toujours en place qui nécessitera des soins d'entretient minutieux.
Le patient sera ensuite suivi par les médecins en consultation externe pour suivre la prise de la greffe et adapter les traitements médicamenteux. Ce suivi est renforcé dans les cas de greffe allogénique par rapport aux greffes autologue en raison des risques liés a la compatibilité du greffon et aux traitements immunosuppresseurs. Pour les allogreffes, la fréquence de ces visites peut être de plusieurs fois par semaine dans les premiers temps. Pour les autogreffes, la plupart du temps ces consultations sont moins fréquentes. Après plusieurs mois si tout se passe bien, le cathéter pourra être retiré et la fréquence des visites de suivi pourra diminuer. (44)
Par la suite, le greffé devra faire des tests de dépistage et évaluer ses fonctions organiques régulièrement. Ce suivi est résumé dans le tableau suivant :

Six Months	One Year	Annually	Recommended Screening/Prevention
			Liver
1	1	+	Liver function testing
	1	+	Serum ferritin testing
			Respiratory
1	1	1	Clinical pulmonary assessment
1	1	1	Smoking tobacco avoidance
	2	+	Pulmonary function testing
+	+	+	Chest radiography
			Musculoskeletal
	1	+	Bone density testing (women and patients with prolonged corticosteroid or calcineurin inhibitor use)
3	3	3	Screen for corticosteroid-induced muscle weakness
3	3	3	Consider need for physical therapy consultation
3	3	3	Osteopenia prophylaxis with bisphosphonates is recommended by some experts
			Kidney
1	1	1	Blood pressure screening
1	1	+	Urine protein screening
1	1	1	BUN/creatinine testing
			Nervous System
	1	+	Neurological clinical evaluation
			Endocrine
	1	+	Thyroid function testing
	1	1	Growth velocity in children
1	1	1	Gonadal function assessment (prepubertal boys and girls)
	1	1	Gonadal function assessment (postpubertal women)
			Vascular
	1	1	Cardiovascular risk factor assessment
			Immune System
3	3	3	Encapsulated organism prophylaxis
1	3	3	PCP prophylaxis
3	3		CMV testing
	1	1	Immunizations
3	3	3	Antifungal prophylaxis is recommended by some experts
3	3	3	Prophylaxis for HSV is recommended by some experts
	2	2	Endocarditis prophylaxis with dental procedures following AHA guidelines
			Second Cancers
	1	1	Second cancer vigilance counseling
	1	1	Breast/skin/testes self-exam
	1	1	Clinical screeening for second cancers
	1	1	Pap smear/mammogram (over age 40)
			Psychosocial
1	1	1	Psychosocial/QOL clinical assessment
+	+	+	Mental health counseling for patients with recognized psychosocial problems
1	1	1	Sexual function assessment
1	1	1	Maintain robust support networks
			Oral Complications
1	1	1	Dental assessment
			Ocular
1	1	1	Ocular clinical symptom evaluation
	3	3	Schirmer testing
	1	+	Ocular fundus exam

Figure 45 : Tableau récapitulatif des examens de suivi post-greffe des patients transplantés. (56)

1 = Recommandé pour tous les patients greffés

2 = recommandé pour les cas d'allogreffe seulement

3 = Recommandé pour tous les patients avec GVHD chronique ou immunosuppression.

+ = Réévaluation recommandé pour les tests anormaux dans une période précédente ou pour de nouveaux signes et symptôme.

D. Efficacité curative des greffes en cas d'hémopathies malignes.

D.1. Résultats des greffes allogéniques

Voici les données de l'année 2009 du rapport de l'Agence de la Biomédecine concernant la survie après allogreffes de CSH en fonction de la pathologie traitée, tout type de conditionnements confondus. (24)

	Médiane de survie	Survie à 1an	Survie à 2ans	Survie à 5ans
Allogreffes	3,3 ans		57%	45%
Adulte				
LAM en première rémission complète				
LAM apparenté	non atteinte	76%	67%	57%
LAM non apparenté	3,5 ans	68%	55%	46%
LAM non apparenté sang cordon	18 mois	57%	46%	41%
LAM en 2ème ou 3ème rémission complète				
LAM apparenté	2,6 ans	69%	66%	63%
LAM non apparenté	3,2 ans	54%	57%	51%
LAM non apparenté sang cordon	2 ans	42%	40%	43%
LAL en rémission complète				
LAL apparenté	3,8 ans	74%	60%	48%
LAL non apparenté	2 ans	66%	50%	44%
LAL non apparenté sang cordon	1,3ans	56%	47%	22%
Aplasie acquises				
apparenté	non atteinte	85%	82%	78%
non apparenté	non atteinte	64%	60%	55%

Aplasie constitutionnelle				
apparenté	non atteinte	77%	75%	75%
non apparenté	2,3 ans	55%	51%	49%
Conditionnement atténué				
LAM en rémission complète				
LAM apparenté	3,9 ans	72%	60%	45%
LAM non apparenté	3,1 ans	67%	56%	43%
LAM non apparenté sang cordon	1,5 an	60%	45%	43%
Lymphome en rémission complète				
apparenté	non atteinte	73%	68%	60%
non apparenté	1,9 an	61%	49%	45%
Myélome				
apparenté	3,6 ans	77%	68%	50%
non apparenté	1,9 an	59%	47%	23%
Enfant				
LAM en rémission complète				
LAM apparenté	non atteinte	88%	82%	70%
LAM non apparenté	non atteinte	70%	62%	55%
LAM non apparenté sang cordon	14 mois	56%	49%	43%
LAL en rémission complète				
LAL apparenté	non atteinte	88%	82%	70%
LAL non apparenté	non atteinte	70%	62%	55%
LAL non apparenté sang cordon	20 mois	61%	46%	43%

Figure 46 : Résultats des greffes allogéniques selon les pathologies. (24)

D.2. Résultats des greffes autologues

Les indications des greffes autologues sont tellement diversifiées et les statuts des maladies au moment de la greffe si variables qu'il est difficile de trouver des résultats chiffrés de la survie.

Cependant, le recul montre 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 réalisées dans les cas réfractaire à la chimiothérapie ont été particulièrement médiocres.

Pour le cas particulier du myélome, l'autogreffe de CSH ne permet que d'exceptionnelles réelles guérisons. En revanche, si ces greffes autologues sont réalisées précocement, elles permettent d'allonger significativement la durée de survie des malades qui passe à 60% des cas à 3 ans.

Pour avoir des données plus précises, il est recommandé de se reporter aux résultats globaux des traitements dans lesquels est incluse l'autogreffe de CSH. (19)

D.3. Qualité de vie après la greffe

Plus de 80% des patients greffés rétablis estiment que leur qualité de vie après la greffe est bonne. Les facteurs qui permettent de retrouver une vie la plus normale possible sont le jeune âge du patient au moment de la greffe, le type de donneur, le faible grade ou l'absence de GVH aiguë et l'absence de GVH chronique. (21)

E. Réactions post-greffes et prise en charge

E.1. Réaction du greffon contre l'hôte (GvH)

La GvH n'est pas rencontrée dans les greffes autologues puisqu'il n'y a pas d'incompatibilité cellulaire avec le greffon. En revanche, la GvH est observée dans les allogreffes avec une incidence variable suivant l'origine des CSH. (cf. figure 38)
Le greffon allogénique contient les lymphocytes T en plus des CSH qui sont administrés à un receveur immunodéprimé par le conditionnement de la greffe, ce qui entraînent une réaction des LT du greffon envers les cellules du receveur. Il en résulte un ensemble de symptômes dit de réaction du greffon contre l'hôte ou GvH.
Le développement des connaissances du système HLA à démontré que la fréquence et la sévérité de la GvH augmentait avec l'importance des disparités des antigènes HLA entre le donneur et le receveur. Cependant, dans les cas de greffe entre jumeaux, malgré une compatibilité totale de ces antigènes, la moitié des patients sont quand même affecté par une GvH.
En l'absence de traitements immunosuppresseurs, la plupart des allogreffes de CSH se compliquent d'une GvH. Actuellement, cette complication est encore très fréquente, et reste une cause majeure de morbidité et de mortalité dans les greffes de CSH. Cependant, l'utilisation d'immunosuppresseurs permet de réduire la fréquence des GvH.

On distingue deux formes cliniques de GvH : la GvH aiguë qui se produit dans les 100 premiers jours qui suivent la greffe et la GvH chronique qui se produit au-delà des 100 premiers jours post-greffe. Cette limite de 100 jours est fixée arbitrairement mais en pratique, la GvH aiguë et la GvH chronique peuvent survenir plus tôt ou plus tard. (57)

E.1.1. GVH aiguë

La GvH aiguë apparait au cours du premier mois post greffe et varie en fonction de la compatibilité du greffon avec le receveur (environ 1 semaine après une greffe non apparentée et 3 semaines après une greffe géno-identique). Ce délai correspond au temps dont ont besoin les lymphocytes T transfusés pour proliférer et se différencier. Rarement, la GvH peut se produire dès la première semaine post-greffe et l'issue dans ce cas est souvent fatale.
L'incidence de la GvH aigue est très variable avec une moyenne de 40 % dans les greffes géno-identiques et de 70 % dans les greffes non apparentées.
La GvH aiguë est classée en différents grades de sévérité croissante : du grade I, le moins grave, au grade IV, le plus grave. La majeure partie des patients qui développent une GvH de grade III ou IV, décèdent directement ou indirectement de cette complication. (57)

E.1.2. Signes cliniques de la GvH aigue

La GvH aigue se traduit typiquement par l'atteinte d'au moins un des trois organes suivants : la peau, le foie et le système digestif.
Le diagnostic de la GvH aiguë est d'abord différentiel ; il faut éliminer une des affections suivantes : toxidermie, éruption virale, hépatite médicamenteuse ou virale, maladie veino-occlusive ou diarrhée infectieuse.
La GvH provoque une destruction des cellules épithéliales associée à un infiltrat inflammatoire modéré. Au niveau de la peau et du tube digestif, cela conduit à dégénérescence de l'épithélium et au niveau du foie à une nécrose des hépatocytes et de l'épithélium des canaux biliaires. D'autres tissus peuvent être impliqués comme les poumons, le cœur, les reins, la vessie, la conjonctive, les glandes exocrines. (57)

GvH cutanée
La GvH aiguë revêt généralement la forme d'une éruption maculopapuleuse, prurigineuse et inflammatoire d'évolution variable. Elle touche dans un premier temps la paume des mains et la plante des pieds. Elle s'étend ensuite au tronc, à la racine des membres puis à l'ensemble des téguments. (cf. figure 47).
La gravité est variable, allant d'une simple éruption cutanée jusqu'au Syndrome de Lyell. Les muqueuses peuvent également être touchées. Le diagnostic différentiel est parfois difficile

avec une toxidermie ou plus rarement avec une érythrodermie infectieuse et le diagnostique de certitude se fait histologiquement. (57;58)



Figure 47 : Atteinte cutanée lors d'une GvH aigue. (58)

GvH hépatique

Le foie est le second organe le plus touché après la peau. L'atteinte hépatique conduit à un ictère d'intensité variable et une cytolyse diminuant progressivement au cours du temps. Il se développe également une cholestase sans insuffisance hépatocellulaire. Des foyers de nécrose se développent dans le foie parallèlement à une destruction des canaux biliaires. Le diagnostique doit être également précisé histologiquement. (57;58)

GvH digestive

Les manifestations digestives sont généralement retardées par rapport à l'atteinte cutanée.

Les signes cliniques sont une diarrhée aqueuse, verdâtre et hémorragique avec douleurs abdominales et vomissements. Des hémorragies digestives peuvent se rencontrer ainsi qu'un syndrome rectal s'il y a une atteinte colique basse. En revanche, s'il y a une atteinte de la partie supérieure du tractus digestif, on peut retrouver des symptômes comme l'anorexie, les dyspepsies, les nausées et des vomissements sans diarrhée. (57;58)

E.1.3. GvH chronique

La GvH chronique apparait généralement entre 100 et 400 jours (3 mois à 13 mois) après la greffe et la symptomatologie ressemble à celle d'une maladie auto-immune.
Comme pour la GvH aiguë, l'incidence de la GvH chronique est très variable avec une moyenne pour 40 % des greffes géno-identiques et de 60 % des greffes non apparentées. La survenue au préalable d'une GvH aiguë est un facteur de risque de développement d'une GvH chronique.
Il existe 3 modes d'apparition d'une GvH :

- Soit à début progressif, dans la continuité de la GvH aiguë.
- Soit quiescente, qui se développe après une GvH aiguë, sans guérison de celle-ci.
- Soit qui se développe sans GvH aiguë préalable.

La GvH chronique est la première cause de mortalité consécutive aux allogreffes en dehors de toute rechute.

Pour qu'une GvH puisse se développer, le greffon doit contenir des cellules immunologiquement compétentes que sont les lymphocytes T matures. Les études cliniques confirment les données expérimentales qui démontrent que la sévérité de la GvH est corrélée au nombre de cellules T du donneur transfusées. De plus, il doit exister des différences au niveau HLA pour que les antigènes tissulaires induisent la prolifération et différenciation de ces lymphocytes T. Enfin, le receveur ne doit pas pouvoir produire une réponse efficace pour détruire les cellules transplantées. (57)

E.1.4. Signes cliniques de la GvH chronique

La GvH chronique présente des similarités avec des maladies auto-immunes telles que la sclérodermie, le lupus érythémateux, le syndrome de Sjögren's, l'arthrite rhumatoïde et la cirrhose biliaire primitive.
Les manifestations cliniques de la GvH chronique les plus fréquemment observées sont :

Manifestations cutanées
C'est l'organe le plus fréquemment impliqué dans la GvH chronique avec des zones hyper ou hypo pigmentées associées ou non à des papules. Elles peuvent prendre la forme d'éruption

érythémateuse avec desquamation lors d'une exposition au soleil. Le plus souvent ces lésions sont prurigineuses et engendrent une perte de flexibilité de la peau. (57;58)

Manifestations hépatiques

L'atteinte hépatique se traduit pas une cytolyse et une cholestase qui peut parfois causer la survenu d'un ictère. Ces troubles peuvent entraîner un prurit. Une biopsie et une analyse histologique est nécessaire pour confirmer le diagnostic. (57;58)

Autres manifestations

- Manifestations buccales avec douleurs, sécheresse, gingivite, mucite, érythème, ulcération, atrophie ou encore une pigmentation des lèvres et des dents.
- Manifestations oculaires avec sécheresse, sensation de brûlure et de sable dans les yeux, douleurs, photophobie ou ulcération de la cornée.
- Manifestations gastro-intestinales avec dysphagie, brûlures d'estomac, douleurs rétro-sternales, desquamations ou ulcérations de la muqueuse, anorexie, nausées, vomissements, diarrhée et perte de poids peuvent être également présents.
- Manifestations pulmonaires avec des infections récurrentes et un dysfonctionnement pulmonaire chronique obstructif avec une toux non productive et une dyspnée.
- Des manifestations cliniques moins fréquentes, affectent également les cheveux, les articulations, le vagin et la vulve, le système hématologique et musculo-squelettique. (57)

E.1.5. Classification et grade de sévérité de la GvH aigue

Les GvH sont habituellement classé en grade de sévérité croissance. (cf. figure 48).

Le grade de la GvH sera calculé en fonction des grades d'atteintes de la peau, du foie et des intestins. (cf. figure 49)

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

Figure 48 : Détermination du grade d'attente des organes lors d'une GvH aigue. (19)

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

Figure 49 : Détermination du grade de la GvH aigue en fonction de l'atteinte des organes. (19)

E.1.6. Prévention et traitement des GvH

E.1.6.1. Prévention

La meilleure prévention possible de la GvH est d'assurer le maximum d'histocompatibilité HLA.
Actuellement, des traitements immunomodulateurs, dont la ciclosporine, sont pratiquement systématiquement administrés après une allogreffe. L'action de cette molécule est d'agir contre la prolifération des lymphocytes T via la production d'IL2. Elle est prescrite le plus souvent pendant 6 mois et possède une toxicité rénale non négligeable.

La GvH étant déclenchée par les lymphocytes T contenus dans le greffon, la déplétion en lymphocytes T des greffons issus du sang circulant et de la moelle est une solution satisfaisante pour réduire les risques de GvH. Elle est pratiquée depuis une quinzaine d'années et à considérablement réduit l'incidence des GvH graves.

Cependant, il a été remarqué que dans les cas des greffons déplétés en lymphocyte T, le nombre de rejet de greffes était beaucoup plus élevée et le risque de rechute post-greffe était augmenté chez les patients atteints de maladies malignes.
En effet, la suppression d'une grande partie des lymphocytes T du greffon engendre la disparition des cellules immunocompétentes responsable de la GvH chez le receveur mais également des cellules immunocompétentes du donneur capables de détruire les lymphocytes T résiduels du receveur et les cellules malignes résiduelles du receveur. Il y a donc un risque de rechute accru. Ces techniques sont actuellement améliorées en réalisant des déplétions partielles en lymphocytes T afin de permettre l'éviction des lymphocytes responsables de la GvH tout en conservant les autres. (19)

E.1.6.2. Traitement curatif de la GvH aiguë

Pour les atteintes cutanées localisées, un traitement corticoïde local peut suffire mais si la maladie est plus évoluée, il faudra recourir aux immunosuppresseurs avec dans un premier temps une corticothérapie (1 à 5 mg/kg/j de prednisone) associé à la ciclosporine.
D'autres médicaments peuvent ensuite être envisagés comme le sérum anti-lymphocytaire (Thymoglobulin®),les anticorps monoclonaux (daclizumab / Zenapax®, infliximab /

Remicade®), le mycophénolate mofétil (CellCept®), le sirolimus (Rapamune®) ou encore le tacrolimus (Prograf®) (19;44)

E.1.6.3. Traitement curatif de la GvH chronique

Les immunosuppresseurs sont les seuls traitements envisageables actuellement disponible dans ces cas : le daclizumab (Zenapax®), l'étanercept (Enbrel®), l'infliximab (Remicade®), le mycophénolate mofétil (CellCept®), le tacrolimus (Prograf®), ou encore la thalidomide (Thalomid®).
Le principal problème rencontré est que ces immunosuppresseurs vont également accentuer l'immunosuppression provoquée par le conditionnement pré-greffe et augmentent donc le risque infectieux pour le patient. (19;44)

E.2. La réaction du greffon contre la leucémie (GvL)

L'élévation du risque de rechute leucémique observé après une allogreffe « T-déplétée » a permis de mettre en évidence l'effet GvL (graft versus Leukemia) des lymphocytes T du greffon contre la maladie résiduelle chez le receveur.
Les lymphocytes T contenus au sein du greffon ont la capacité de reconnaître les cellules tumorales restantes chez le receveur et de les détruire. Le patient peut alors lutter lui-même contre sa maladie. Il conservera également ce nouveau système immunitaire toute sa vie, ce qui réduira considérablement les risques de rechute.
La recherche actuelle vise à identifier les mécanismes immunologiques responsables des effets GvH et GvL pour parvenir à optimiser, par une manipulation du greffon, l'effet GvL tout en minimisant l'effet GvH. (19;44)

E.3. Complications post greffe

E.3.1.Infections (cf. figure 51)

❖ J0 à J+30 post-greffe

Les infections liées à la transplantation résultent de la neutropénie sévère post-greffe et de l'immunodéficience qui se prolonge parfois jusqu'à un an après la transplantation.

Les infections bactériennes ont très peu d'incidence à ce stade de la greffe grâce aux mesures d'hygiène, d'asepsie, à la décontamination digestive et aux antibiotiques à très large spectre prescrits dès la survenue d'un épisode fébrile.
Chez les patients qui portent un cathéter central, les infections à Staphylococcus aureus et à staphylocoques coagulase négatifs sont fréquemment diagnostiquées et peuvent provoquer des sepsis. Des infections à Streptococcus viridans liées aux mucites et à la prophylaxie antibiotique peuvent également se voir.

Les infections virales rencontrées à ce stade seront le plus généralement une réactivation de la forme latente du virus *Herpès simplex virus (HSV).* Elle peut provoquer une gingivostomatite et des vésicules extragénitales. Le virus de la varicelle et du zona *(VZV)* peut également être réactivée. Ces réactivations peuvent être prévenues par de l'aciclovir ou du valaciclovir.

Les infections fongiques invasives comme les septicémies à *Candida* font partie des causes majeures de mortalité infectieuse après une greffe de CSH. Des infections pulmonaires à *Aspergillus* mais aussi à *Cryptococcus* ou *Candida* peuvent également survenir. Des infections à mycobactéries atypiques peuvent également s'observées.
Afin d'éviter ces infections, le patient est maintenu en milieu hospitalier en secteur protégé.
(21;59)

❖ J+30 à J+100 post-greffe

Cette phase correspond à la fin de la neutropénie sévère induite par le conditionnement. Les barrières défensives altérées par le conditionnement, commencent à se reformer.

Les agents pathogènes le plus rencontrés pendant cette phase sont les virus du groupe Herpès et plus particulièrement le cytomégalovirus (CMV), qui peut se réactive ou provoque une infection primaire. Elle se manifeste par une pneumopathie ou une hépatite mais peut également être asymptomatique. Le taux de mortalité de ces infections est élevé, de l'ordre de 15-20 % des cas. D'autres virus peuvent également s'observer comme l'adénovirus qui provoque des hépatites, des pancréatites, des cystites hémorragiques et des pneumopathies, le virus respiratoire syncytial qui contamine 11 % des enfants ou encore l'HHV-6 responsable d'état fébrile ou d'encéphalite. Tout agent viral confondu, l'incidence de ces infections est de 5 à 21 % et la mortalité varie de 18 et 60 %.

Les bactéries encapsulées comme Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis, Haemophilus influenzae sont à risque d'infections potentiellement mortelles et dont la prophylaxie par les pénicillines doit être poursuivie plusieurs années.
Il existe des recommandations de vaccination pour les patients ayant reçus une greffe de CSH afin de réduire au maximum le risque d'infections tardives. (cf. figure 50).

Enfin, des infections parasitaires à forte morbidité et mortalité, notamment à Pneumocystis carinii, peuvent survenir et nécessite une prophylaxie par le cotrimoxazole (Bactrim®). Il a également été rapporté des cas de toxoplasmoses tardives chez quelques patients. (21;59)

❖ >J+100 post-greffe

Le rétablissement de l'immunité se fait très progressivement après la greffe. L'immunité humorale redevient normale 1 à 4 mois après la greffe et l'immunité cellulaire après 9 à 12 mois voir plus. La présence d'une GVH, surtout chronique, et les traitements immunosuppresseurs rallongent encore ces délais et exposent les patients greffés aux infections bactériennes, virales et fongiques pendant au moins 1 an.

Le plus souvent, en l'absence de GvH chronique, les infections sont rares au delà de 100 jours.

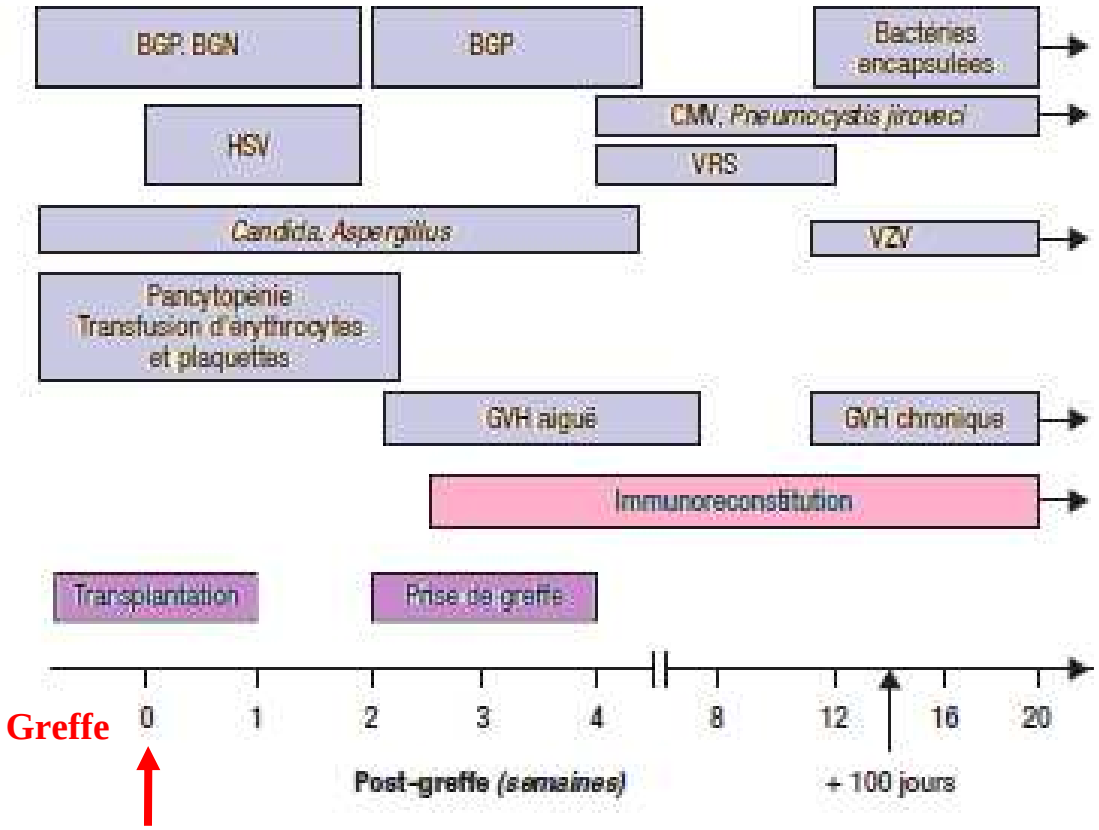
La présence d'une GVH chronique qui altère les barrières de protection cutanée, muqueuses, le tractus gastro-intestinal et qui implique un traitement immunosuppresseur, favorise la survenue d'infections. Elles sont généralement localisées au niveau de la peau, du tractus respiratoire et des poumons.

Une des pathologies tardives les plus graves est la pneumopathie interstitielle diffuse causée par le CMV ou Pneumocystis carinii responsable d'une détresse respiratoire aiguë. Elle survient généralement dans les 4 mois après la greffe avec un pic entre la 8ème et la 12ème semaine et la mortalité dépasse 60 %. (21)

En résumé

	Available forms	Available data in HSCT patients	Recommended after HSCT	Strength of recommendation+	No of doses	Time after HSCT (months)	Improved by donor vaccination
BACTERIAL VACCINES							
S. pneumoniae	PS Conjugate PS	Yes Yes	Yes Yes (subgroups)	AII CII	1 3	12 Unclear	No Yes
H. influenzae type B	Conjugate PS	Yes	Yes	BII	3	6	Yes
N. meningitidis types A and C *N. meningitidis* type C	PS Conjugate PS	Yes No	Individual assessment	CII	1 1	6-12 6	Unknown Unknown
BCG	Live	No	Contra-indicated	EII	NA	NA	Unknown
Tetanus	Toxoid	Yes	Yes	BII	3	6-12	Yes
Diphtheria	Toxoid	Yes	Yes	BII	3	6-12	Likely
B. pertussis#	Acellular, toxoid +/- other antigens	Yes	See text	CIII	3	6-12	Unknown
VIRAL VACCINES							
Influenza	Inactivated	Yes	Yes, yearly	AII	1	4-6	Unknown
Inactivated polio	Inactivated	Yes	Yes	BII	3	6-12	Unknown
Hepatitis B	Inactivated plasma or recombinant DNA derived	Yes	See text	BII	3	6-12	Yes
Hepatitis A virus	Inactivated	No	In endemic areas and in travellers	CIII	3	6-12	Unknown
Measles§	Live	Yes	Individual assessment	BII	1	24*	Unknown
Rubella§	Live	Yes	Individual assessment	BIII	1	24*	Unknown
Mumps§	Live	Yes	Individual assessment	CIII	1	24*	Unknown
Varicella	Live	Limited	Individual assessment	CIII	Unclear	Before HSCT or at 24*	Unknown
Yellow fever	Live	Limited	Individual assessment, travellers	CIII	1	24*	Unknown

Figure 50: Recommandation de vaccination pour les patients ayant subis une greffe allogénique ou autologue de CSH. (47)



BGP : bactéries à Gram positif ; BGN : bactéries à Gram négatif ; HSV : Herpès simplex virus ; CMV : cytomégalovirus ; VRS : virus respiratoire syncytial

Figure 51 : Délai d'apparition des principales complications immunologiques et infectieuses après une greffe de CSH. (21)

E.3.2. Complications à court terme

E.3.2.1.Rejet du greffon

Le rejet se produit lorsque les cellules immunologiquement actives du receveur vont s'attaquer et détruire les cellules greffées.

Il peut se produire de façon hyper-aigu dans les premières heures qui suivent la greffe, de façon aigu dans les premiers jours de la greffe ou encore de façon chronique par la détérioration progressive dans le temps du greffon.

Actuellement, le risque de rejet est très faible (de l'ordre de 5% pour les greffes géno-identique) en raison de l'importante immunosuppression du receveur induite par le conditionnement et grâce aux traitements immunosuppresseurs administrés après la greffe.
Les facteurs influant la survenue d'un rejet sont les conditionnements pré-greffe moins intensif, une prophylaxie de la GvH par les immunosuppresseurs, les incompatibilités HLA, la déplétion lymphocytes T du greffon et les transfusions sanguines antérieures qui augmentent le polymorphisme cellulaire du receveur. (19;21)

E.3.2.2. Effets indésirables des traitements myéloablatifs

- Mucites

C'est une inflammation de la muqueuse, le plus souvent localisée au niveau de la bouche (stomatite) et du tube digestif mais pouvant être associée à des lésions plus diffuses (muqueuse génitale et conjonctive de l'œil).
Les mucites représentent la complication la plus fréquente des greffes de CSH après un conditionnement myéloablatif d'autant plus si le méthotrexate est utilisé en prévention de la GVH. Elle représente une porte d'entrée aux infections et entrainent une dénutrition majeur qui peut nécessiter le recours à une nutrition parentérale.
La mucite oropharyngée nécessite l'utilisation d'antalgiques majeurs car elle est extrêmement douloureuse et peut conduire jusqu'à une intubation selon les cas.
La mucite digestive peut entraîner des nausées, des crampes et une diarrhée. (19 ;21)
Généralement, le traitement se fera grâce à des bains de bouche quotidiens et à la prescription d'antiseptique (chlorhexidine), d'antibiotique (Vancomycine®), d'antifongiques (Fungizone®) et d'antalgiques (Xylocaine®, morphine)

- Maladie veino-occlusive du foie

La maladie veino-occlusive du foie est la deuxième complication la plus fréquente après une greffe. C'est un syndrome associant une hépatomégalie douloureuse, un ictère et une rétention liquidienne avec augmentation du poids.
Dans les formes les plus graves, le décès survient par défaillance multiviscérale impliquant les reins et le système cardio-pulmonaire. L'absence de traitement vraiment efficace pour cette

pathologie rend nécessaire une prévention par l'utilisation de conditionnements d'intensités réduites ainsi que par l'adaptation posologique des chimiotoxiques utilisés pour le conditionnement.

E.3.2.3. Manifestation neuropsychiatriques (MNP)

Les patients greffés de CSH peuvent manifester, jusqu'à 80 jours après la greffe, des troubles neuropsychiatriques. Il est possible d'observer une altération de l'état général, une augmentation des manifestations douloureuses et le plus souvent une prolongation de l'hospitalisation. Généralement, les patients présentent un état dépressif qui se répercute sur leurs proches et le personnel soignant, ce qui au final impacte de manière négative le pronostic vital. Leur fréquence peut atteindre jusqu'à 50% des cas.
Les facteurs de risque de survenue et de gravité de ces MNP sont, avant la greffe, une élévation des phosphatases alcaline et de l'urémie et après la greffe, ce sont l'utilisation de doses élevées d'opiacés et les antécédent de douleurs. (60)

E.3.3. Complications à long terme

La majorité des patients ayant survécu sont actifs et en bonne santé à long terme mais peuvent quand même développer certaines complications tardives qui peuvent mettre en jeu le pronostique vital (rechute, cancer secondaire). (21)

E.3.3.1. Dysfonctionnement d'organe

Le conditionnement du patient cause des dommages aux organes pouvant être irréversibles. C'est un des problèmes majeur après la greffe de CSH qui peut toucher tous les organes.
(cf. figure 52)

Organes atteints	*Facteurs de risque*	*Manifestations cliniques*	*Prévention*	*Traitement*
Complications non malignes				
Appareil oculaire				
Cataracte	Irradiation, corticoïdes	Atteinte sous-capsulaire postérieure	Irradiation fractionnée	Chirurgie
Kératoconjonctivite	GVH chronique	Syndrome sec	Hydratation oculaire	Traitement de la GVH
Poumon				
Syndrome restrictif	Irradiation	Dyspnée progressive	-	-
Syndrome obstructif	GVH Irradiation Hypogammaglobulinémie Prophylaxie de la GVH par MTX* Infections virales	Toux, dyspnée	-	Traitements Immunosupresseurs associés à des traitements locaux (corticoïdes et bronchodilatateurs)
Foie				
Hépatite C	Transfusions avant 1990	-	Transfusions sécurisées	Ribavirine-PEG IFN® en l'absence de contre-indication
Hépatite B	Idem sujet compétent	-	-	Zeffix® après la greffe
Os et articulations				
Ostéonécroses aseptiques	Irradiation, corticoïdes	Douleur, impotence fonctionnelle	-	Antalgiques et chirurgie
Ostéoporose	Corticoïdes	Fractures	-	Supplémentation hormonale, calcium vitamine D
Thyroïde				
	Irradiation	Hypothyroïdie	-	Hormonothérapie substitutive
Gonades°				
Femme	Âge avancé à la greffe	-	-	Avis spécialisé
Homme	Agent alkylant	Hypogonadisme périphérique	-	Avis spécialisé
Complications malignes				
Myélodysplasie, leucémie aiguë	Agent alkylant	Panytopénie	-	Chimiothérapie
Lymphome EBV	Greffe non apparentée, sérum antilymphocytaire	Syndrome tumoral	PCR préemptive EBV	Anti-CD20 et diminution de l'immunosuppression
Tumeurs solides	Irradiation, GVH	ORL, foie, peau	Surveillance	Chirurgie, radiothérapie, chimiothérapie

Figure 52 : Principales atteintes organiques après une greffe de CSH. (61)

E.3.3.2. Stérilité

Les conditionnements myéloablatifs détériorent systématiquement les fonctions ovarienne et testiculaire à plus ou moins long terme. Les solutions envisagées pour maintenir la fertilité chez la femme peuvent être la suppression hormonale des ovaires avant le conditionnement qui permet de récupérer une ovulation normale après la transplantation ou la cryoconservation d'ovocytes qui a démontré sa faisabilité. Les hommes deviennent habituellement stériles après la greffe mais la conservation du sperme recueilli avant le conditionnement permet d'envisager une fécondation. (21;61)

E.3.3.3. Retard de croissance

Les conditionnements myéloablatifs donnent les problèmes de croissance sévère chez les enfants ayant reçu une irradiation corporelle totale. Une thérapie par l'hormone de croissance peut être envisagée afin d'augmenter leur taille. (21)

E.3.3.4. Retard intellectuel

Les enfants ayant subi des traitements par chimiothérapie et/ou une irradiation corporelle totale peuvent développer un retard intellectuel de sévérité variable. (21)

E.3.3.5. Complications malignes

L'incidence de ces complications est estimée de 4 à 5 % dans les 10 ans de la greffe, mais l'incidence à plus long terme semble nettement augmentée.

Dans les cancers, une cellule indifférenciée est une cellule qui a perdu son caractère différencié le plus souvent par le dérèglement du programme génétique qu'elle avait acquis auquel s'ajoute une multiplication anarchique car les cellules concernées ne répondent plus aux signaux régulateurs. (cf. figure 53)
Les CSH sont donc de parfaites cellules cancéreuses, n'ayant aucune différenciation spécifique. La crainte d'un cancer est donc justifiée quand il est question de traitement avec des CSH car ces dernières se divisent très facilement et leur potentiel cancérigène a déjà été démontré sur les animaux et sur les êtres humains.

Après autogreffe :
Des myélodysplasie et des leucémies secondaires ont été observées et décrites après autogreffe en cas de maladie de Hodgkin, de lymphomes non Hodgkiniens et de myélomes. L'intensité des traitements cytotoxiques notamment par des alkylans conditionne leur incidence et le pronostic de ces cancers demeure très sombre.

Après allogreffe :

Certains lymphomes liés à l'Epstein Barr virus (EBV) présent dans les cellules du donneur ont été observés mais ces complications devenues rare depuis que les patients présentant une réactivation à EBV sont rapidement traités par rituximab.

Cependant, le risque de tumeur solide est 3 à 5 fois supérieures celui de la population générale de même âge et de même sexe et concerne les tumeurs de la sphère ORL, les hépatocarcinomes, les tumeurs cutanées, les tumeurs cérébrales, et les tumeurs thyroïdiennes, les cancers du sein et les sarcomes qui sont considérés comme tumeurs molles. L'irradiation corporelle totale et la GvH sont les deux principaux facteurs de risque de développement de cancers secondaire. Lors du suivi à long terme des patients, le dépistage de ces cancers est effectué systématiquement aussi bien pour les patients ayant reçu une allogreffe qu'une autogreffe. (29;61)

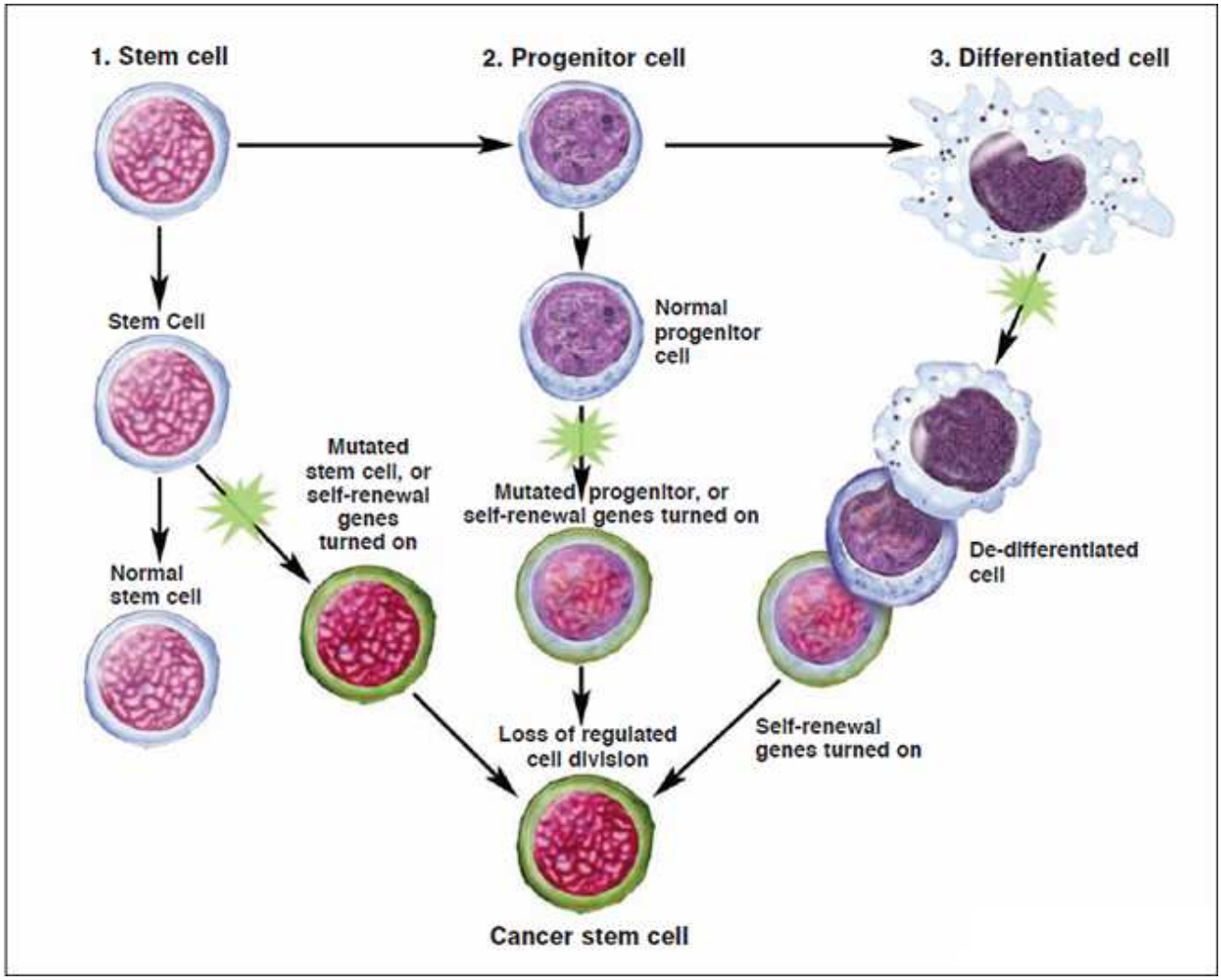


Figure 53 : Mécanismes de dérive cancéreuse des CSH. (29)

PARTIE 3 :

Banques de sang de cordon et rôle du pharmacien d'officine.

A. Banques de CSH

Il existe dans le monde un peu plus de 130 banques de cellules souches issues du sang de cordon réparties de la façon suivante : 40 % en Europe, 30% aux États-Unis et au Canada, 20 % en Asie et 10 % en Australie.

Environ 75 % de ces banques sont des banques publiques sans but lucratif, qui proposent des services à la collectivité. Elles conservent des échantillons provenant de dons en vue de la réalisation de greffes ou à des fins de recherche. Elles conservent également du sang de cordon pour une utilisation intrafamiliale lorsqu'il existe un risque connu au sein d'une famille possédant un groupe HLA rare.

Les 25 % restants sont des banques privées commerciales qui proposent en tant que service la conservation de cellules de sang de cordon à des fins autologues au profit de leurs clients. En Europe, on trouve de telles banques notamment en Allemagne, en Autriche, en Belgique, aux Pays-Bas, en Pologne et au Royaume-Uni.

La coexistence des banques publiques et des banques privées

En Allemagne, au Danemark, aux Pays-Bas, en Pologne, au Royaume-Uni, au Canada et aux États-Unis, la loi autorise le fonctionnement des banques de sang placentaire sur seule détention d'une autorisation administrative. Comme elle ne se prononce pas sur le statut de ces établissements, elle permet la coexistence des banques privées et des banques publiques.

Ainsi, en Allemagne, on dénombre à ce jour quatre banques publiques, parmi lesquelles celle de Düsseldorf qui est la plus importante d'Europe et qui détient plus de 13 500 unités. Il y a également sept banques privées qui collectent le sang placentaire dans environ 95 % des maternités. La plus importante conserve actuellement environ 50 000 unités.

Aux Pays-Bas, le réseau public, constitué par deux établissements de stockage alimentés par les prélèvements effectués dans plusieurs maternités de quatre ville coexiste avec plusieurs banques privées. Il en va de même au Royaume-Uni, au Canada et aux États-Unis.

En revanche, au Danemark, la conservation du sang placentaire s'effectue uniquement dans des banques privées car les autorités sanitaires ont décidé de ne pas créer de banque publique, mais de développer la coopération entre les plus grands hôpitaux du pays et les banques privées finlandaise pour couvrir les besoins de tous les pays scandinaves.

En Allemagne et au Royaume-Uni, les banques privées diversifient depuis peu leur offre. En Allemagne, plusieurs d'entre elles proposent à leurs clients l'option du don à un tiers

compatible. Au Royaume-Uni, l'année 2007 a vu la création de la première banque mixte à la fois publique et privée qui propose de conserver le sang placentaire en deux échantillons, l'un destiné à un usage personnel et l'autre accessible de tout demandeur.
De la même façon, au Canada, une banque privée a parallèlement à son activité traditionnelle développé un programme de dons grâce auquel elle stocke des unités de sang placentaire qui sont mises à la disposition de tout demandeur.

La Belgique, l'Espagne et l'Italie assouplissent progressivement leur législation qui interdisait initialement les banques privées de sang placentaire.
En Espagne, le décret du 10 novembre 2006 a supprimé l'interdiction des banques de sang placentaire privées. Toutefois, ce texte donne la priorité à l'intérêt général, car en cas de besoin pour une greffe allogénique, les banques privées ont l'obligation de céder au réseau public les unités compatibles qu'elles stockent.
En Italie, depuis le début de l'année 2008, la loi permet le stockage du sang placentaire à des fins personnelles ainsi que la création de banques privées sur le sol italien.
En Belgique, le vide juridique qui règne actuellement a permis à une banque privée de s'implanter. Afin de clarifier la situation, un texte autorisant les établissements privés, à condition qu'ils soient rattachés à une banque publique, a vu le jour. En outre, il subordonne tout stockage au bénéfice d'un receveur identifié au fait que le greffon reste à la disposition des banques publiques
L'absence de banques privées de sang placentaire apparaîtra bientôt comme une exception française.

Dans le cas des banques privées, si un particulier veut conserver le sang de son enfant, il doit verser de l'ordre de 2000$ à 3000$ pour l'inscription et le recueil du sang, puis de 100$ à 200$ par an pour sa conservation.

En France, les parents peuvent faire don (bénévole, anonyme et gratuit) du sang de cordon à une banque publique de sang placentaire, afin qu'il puisse être utilisé pour des greffes allogéniques. L'établissement français du sang et l'Agence de la biomédecine ont créé en 1999 le réseau français de sang placentaire, qui est une association à but non-lucratif chargée de gérer ces questions.
Les greffons stockés sont inscrits dans le registre national « France Greffe de Moelle » et mis à disposition des hôpitaux ou cliniques pour des greffes allo géniques. (62)

B. Aspect bioéthiques des cellules souches

Le débat éthique sur les cellules souches est principalement centré sur la recherche impliquant la création, l'utilisation et la destruction d'embryons. Ainsi, les CSH et les cellules souches adultes, qui n'impliquent pas de créer, d'utiliser ou de détruire des embryons humains, sont peu controversées. Le débat se concentre principalement sur les CSE.

C. Rôle du pharmacien d’officine

En dépit de la progression du nombre de prélèvements de CSH, la France connaît une situation actuelle de pénurie de greffons.
Or la greffe se confirme tous les jours comme une thérapie efficace, de plus en plus fiable et enregistre des progrès constants.

Le pharmacien, en tant que professionnel de santé et surtout acteur de proximité, a un rôle important à jouer auprès de ses patients. Informer, dialoguer ou simplement lancer une réflexion est déjà un pas en avant.
Sur le site de l’Agence de la biomédecine, les professionnels de santé ont la possibilité de commander gratuitement des brochures destinés à être mises à disposition des patients. Ces brochures peuvent parfaitement être mises en libre accès sur les comptoirs et peuvent également servir de support lors d’une discussion avec les patients.



Figure 54 : Livrets d'informations sur le don de CSH. (24)

Depuis plusieurs années, des campagnes d'informations sont mises en place par l'Agence de la biomédecine pour expliquer le don d'organes et la greffe, donner à réfléchir sur sa position personnelle.

Cette année, la 6ème semaine nationale de mobilisation pour le don de moelle osseuse s'est déroulé du lundi 7 au dimanche 13 mars 2011. L'Agence de la biomédecine a lancé en collaboration avec l'Etablissement Français du Sang, les centres hospitaliers et le soutien des associations, une nouvelle campagne d'information sur le don de moelle osseuse autour des « Veilleurs de vie ». L'enjeu est de recruter 18 000 donneurs en un an et de diversifier les profils de nouveaux donneurs sur le registre français.

Cette nouvelle campagne de mobilisation pour le don de moelle osseuse a mis en avant l'engagement des donneurs, une population d'hommes et de femmes qu'elle vise à fédérer en créant une communauté : celle des Veilleurs de vie. L'Agence de la biomédecine a souhaité donner de la visibilité à leur engagement.

Le pharmacien se doit de participer activement à cette semaine de mobilisation en mettant en avant des grandes affiches thématiques pour relayer l'information.



Figure 55 : Campagne d'information pour devenir donneur de CSH. (24)

Conclusion

Nous avons vu dans ce travail la place centrale qu'occupent les CSH dans l'hématopoïèse grâce à leurs formidables capacités d'auto-renouvellement et de différentiation. Ces caractéristiques ont fait d'elles des traitements de choix dans les hémopathies malignes et les atteintes de la moelle osseuse.

Au cours de ces cinquante dernières années, la recherche à permis de comprendre et de rendre réalisable les allogreffes et autogreffes de CSH. Les progrès réalisés pour baisser les toxicités des chimiothérapies de conditionnement, pour mobiliser les CSH, pour augmenter la compatibilité entre le donneur et receveur et aider eu recouvrement plus rapide de l'immunité en réduisant les complications post-greffe ont permis de rendre la greffe accessible à un plus grand nombre de malades et de pathologies comme en témoigne la constante progression du nombre de greffes réalisées par an.

Le cas des CSH ouvre la voie aux perspectives thérapeutiques des autres cellules souches. L'utilisation de celles du pancréas pour soigner un diabète, des neurones pour les traiter des maladies neuro-dégénératives comme la maladie de Parkinson ou d'Alzheimer ou encore des cellules souches musculaires pour remplacer les cellules cardiaques après un infarctus sont des protocoles à l'étude qui laissent croire en de réelle chance d'aboutissement.

Enfin, il est important de rappeler que la réalisation des allogreffes ne peut se faire que grâce aux donneurs volontaires. Pour avoir le plus de chance possible de trouver un donneur compatible, il faut avoir le registre de donneur de moelle osseuse, de CSP et de sang de cordon le plus grand possible. Chacun peut effectuer les démarches pour devenir donneur, et chacun peut avoir un jour besoin d'une greffe.

Table des illustrations

Figure 1 : Capacités d'une cellule souche.
Figure 2 : Caractéristiques des cellules souches en fonction du stade de la vie.
Figure 3 : Mésengenèse.
Figure 4 : Localisation et mouvement des CSM et CSH dans l'os.
Figure 5 : Mécanismes d'action et rôle des CSM lors d'une greffe de CSH.
Figure 6 : Grandes dates de la recherche sur les CSH.
Figure 7 : Origine et destinée des hémangioblastes.
Figure 8 : Evolution des sources des greffons de CSH prélevés en France.
Figure 9 : Mécanismes d'adhésion des CSH aux ostéoblastes.
Figure 10 : Mouvement des CSH dans le sens du gradient de chimiokine.
Figure 11 : Les mécanismes de régulation des niches ostéoblastiques de CSH.
Figure 12 : Mécanismes de régulation et mouvement des CSH dans la niche vasculaire.
Figure 13 : Localisation de l'hématopoïèse de la fécondation à la naissance.
Figure 14 : Caractéristiques des cellules sanguines circulantes.
Figure 15 : L'hématopoïèse.
Figure 16 : Facteurs de croissance hématopoïétiques.
Figure 17 : Marqueurs de surface des CSH du sang circulant et de la moelle osseuse les plus couramment utilisées.
Figure 18 : Schéma du processus d'autogreffe de CSH.
Figure 19 : Répartition des diagnostiques chez les patients ayant eu une autogreffe de CSH en 2009 et pour lesquels le diagnostic est connu.
Figure 20 : Evolution de l'activité d'autogreffe de CSH entre 2005 et 2009.
Figure 21 : Evolution de la répartition des indications d'autogreffe entre 1993 et 2009.
Figure 22 : Schéma du processus d'allogreffe de CSH.
Figure 23 : Evolution de la répartition des sources de greffon pour les allogreffes de CSH.
Figure 24 : Répartition des allogreffes de CSH réalisées en 2009 selon le type du donneur.
Figure 25 : Répartition des indications en 2009 des allogreffes apparentées.
Figure 26 : Répartition des indications en 2009 des allogreffes non apparentées.
Figure 27 : Evolution de la répartition des indications d'allogreffe entre 1992 et 2009.
Figure 28 : Indications d'une transplantation de cellules souches hématopoïétiques.

Figure 29 : Prélèvement de MO au niveau des crêtes iliaque.
Figure 30 : Prélèvement de MO au niveau du sternum.
Figure 31 : Prélèvement de MO au niveau du tibia.
Figure 32 : Caractéristique des greffons de CSH.
Figure 33 : Numération des différents types cellulaires d'un greffon en fonction de sa source.
Figure 34 : Potentiel de transmission de maladie des greffons aux donneurs.
Figure 35 : Dispositif de prélèvement de sang placentaire de type Maco Pharma.
Figure 36 : Réseau francais de sang placentaire.
Figure 37 : Avantages et inconvénients des différentes méthodes de transplantation.
Figure 38 : Evolution de l'activité de cytaphérèse en vue d'autogreffe.
Figure 39 : Représentation de la transmission familiale des antigènes principaux du système HLA.
Figure 40 : Algorithme pour la recherche d'un donneur.
Figure 41 : Evolution du pourcentage d'allogreffes de CSH réalisées après un conditionnement non myéloablatif par rapport au nombre total d'allogreffes.
Figure 42 : Exemple de protocoles pouvant être utilisés lors des conditionnements pré-greffe.
Figure 43 : Chimérisme obtenu après une greffe non myéloablative de CSH.
Figure 44 : Tableau récapitulatif des examens de suivi post-greffe des patients transplantés.
Figure 45 : Résultats des greffes allogéniques selon les pathologies.
Figure 46 : Atteinte cutanée lors d'une GvH aigue.
Figure 47 : Détermination du grade d'attente des organes lors d'une GvH aigue.
Figure 48 : Détermination du grade de la GvH aigue en fonction de l'atteinte des organes.
Figure 49 : Recommandation de vaccination pour les patients ayant subis une greffe allogénique ou autologue de CSH.
Figure 50 : Délai d'apparition des principales complications immunologiques et infectieuses après une greffe de CSH.
Figure 51 : Principales atteintes organiques après une greffe de CSH.
Figure 52 : Mécanismes de dérive cancéreuse des CSH.
Figure 53 : Livrets d'informations sur le don de CSH.
Figure 54 : Campagne d'information pour devenir donneur de CSH.

BIBLIOGRAPHIE

[1] NAQUET P, MARCELLE C. Décisions Cellulaires : Cellules souches. Université Aix – Marseille II [en ligne]. 2010 [consulté le 30 janvier 2011]. Disponible sur : http://biologie.univ-mrs.fr/see-plan.php?crsid=320

[2] HERMANGE M.T. et al. Le sang de cordon : collecter pour chercher, soigner et guérir. Commission des affaires sociales du Sénat. Rapport d'information n° 79, 2008,103 p.

[3] BOCCACCIO C, HAIOUN C. Greffes de cellules souches hématopoïétiques. MASSON, 2007, 165 p.

[4] RODRIGUEZ A.M. Les cellules souches mésenchymateuses. Institut Cochin [en ligne]. 2009 [consulté le 5 février 2011]. Disponible sur : http://cochin.inserm.fr/la-formation/master-2-biologie-cellulaire-bcpp-p5-p7/espace-etudiant-1/ue-ab-cellules-souches-bb/files/Rodriguez.pdf

[5] HIS Charline, BOURGEOIS Audrey. Cellules souches embryonnaires humaines et clonage thérapeutique. Université de Rouen[en ligne]. 2007 [consulté le 19 mars 2011]. Disponible sur : http://www.univ-rouen.fr/ABISS/L1/WEB/CELL-SOU/Pages/presentation.html

[6] TONDEUR S, ASSOU S, et al. Biologie et potentialités des cellules souches embryonnaires humaines. Annales de Biologie Clinique, 2008, vol. 66, n° 3, p. 241-247.

[7] DESCHASEAUX F, SELMANI Z, GARBUIO P, OBERT L. Cellules souches mésenchymateuses et ostéoreconstruction. Mémoires de l'Académie Nationale de Chirurgie, 2007, p. 16-23.

[8] QILING He, CHAO Wan, GANG Li. Circulating Mesenchymal stem cells and their clinical implications. Journal of Bone and Joint Surgery, 2009, vol 93-B, n° 68.

[9] Groupe Interdisciplinaire de Génoprotéomique. Université de Liège. Disponible sur : http://www.giga.ulg.ac.be/jcms/prod_93588/portes-ouvertes-au-giga-cancer

[10] BATTIWALLA M, HEMATTI P. Mesenchymal Stem Cells in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Cytotherapy, 2009; p. 503–515.

[11] BOURIN P. GADELORGE M. Les espoirs des cellules souches mésenchymateuses en médecine réparatrice. Transfusion clinique et biologique. Mai 2007, vol 14, n° 1 p. 120-126.

[12] BOURIN P, SENSEBE L, CHARBORD P. Les cellules souches mésenchymateuses (CSM) : données, controverses, perspectives = Mesenchymal stem cells : data, controversies, prospects. Hématologie, 2004, vol. 10, n° 6, p. 434-443.

[13] KOIDE Y, MORIKAWA S, MABUCHI Y et al. Two distinct stem cell lineages in murine bone marrow. Stem Cells, 2007, vol 25, n° 5, p. 1213–1221.

[14] GARDNER R.L. Stem cells: potency, plasticity and public perception. Journal of Anatomy, Mars 2002, vol 200, p. 277-282.

[15] VON PLANTA M, HUMBERT J, ZUBLER R. Amplification ex vivo des progéniteurs hématopoïétiques : nouvelles approches thérapeutiques ou recherche fondamentale ? Revue Médicale Suisse, février 2000, n° de revue 712, n° d'article 20305.

[16] ROULEAU M. Les cellules souches hématopoïétiques. Université de Nice, Faculté de médecine. [en ligne]. 2006 [consulté le 19 mars 2011]. Disponible sur : http://carabinsnicois.fr/phpbb/download/file.php?id=2377.

[17] PEAULT B. Filiations cellulaires inattendues entre sang et autres tissus de l'organisme : des cellules souches totipotentes persistent-elles chez l'adulte ? Hématologie, 2000, vol. 6, n°5, p. 339-344.

[18] GILBERT Scott, SINGER Susan. Biologie du développement. 2ème éditions. Editions De Boeck. 2004.

[19] JOUET J.P. Les greffes de cellules souches hématopoïétique. Université de Lille 2 - Faculté de médecine [en ligne]. 2007 [consulté le 13 mars 2011].
Disponible sur :
http://medecine.univ-lille2.fr/pedagogie/contenu/mod-transv/module08/item127/greffes_cel_souches_hematop.pdf

[20] MARMIER-SAVET C. Etude de l'impact de la mobilisation des cellules souches périphériques (CSP) mobilisées par le facteur de croissance des granulocytes (G-CSF) sur les donneurs sains et les receveurs après allogreffe de CSP à conditionnement non myéloablatif. Th Doctorat, Université de Franche-Comté 2008.

[21] MARTIN P, AULAGNER G. La greffe de cellules souches hématopoïétiques. Actualités pharmaceutiques hospitalières, 2009, vol 5, n°20, p. 16-28.

[22] GRATWOHL A. Transplantation de cellules souches humaines : nouveaux paradigmes. Forum Med Suisse, 2008, p. 92–97.

[23] THILLAY Cécile. La greffe de sang de cordon : une nouvelle pratique en obstétrique. Mémoire de sage femme : Université de Nantes, 2007, 60 p.

[24] AGENCE DE LA BIOMEDECINE. Le rapport médical et scientifique du prélèvement et de la greffe en France [en ligne], 2009 [consulté le 5 février 2011].
Disponible sur :
http://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2009/donnees/prelevement/ldtf.php

[25] Eurostemcell. Stem cells and regenerative medicine - Les cellules souches et la loi [en ligne], 2011 [consulté le 20 mars 2011].
http://www.eurostemcell.org/faq/86#faq-expand-all

[26] SCHVED J.F. Hématopoïèse, cellules souches et précurseurs hématopoïétiques. Association pour le développement de l'hématologie et de la transfusion [en ligne]. 2008 [consulté le 27 février 2011]. Disponible sur :
http://www.adhet.org/pages/enseignements/hematologie.html

[27] FORSBERG C, SMITH-BERDAN S. Parsing the niche code: the molecular mechanisms governing hematopoietic stem cell adhesion and differentiation. Haematologica, 2009, vol 94, n° 11, p. 1477-1481

[28] COULOMBEL L. Quant l'ostéoblaste courtise la cellule souche / Intimate interactions between osteoblasts and hematopoietic stem cells. Médecine sciences, 2004, vol 20, n° 2, p.156-158.

[29] Charles A, Goldthwaite Jr. Are Stem Cells Involved in Cancer ? The national institute of health resource for stem cell research, Regenerative Medicine, 2006, p. 89-97.

[30] BINET C. L'hématopoïèse. Université de Tours [en ligne]. 2008 [consulté le 20 mars 2011]. Disponible sur :
http://fmc.med.univ-tours.fr/Pages/Hemato/Hematopoiese/hematopoiese.html

[31] BINET C, DOMENECH J, HERAULT O. Cellules souches hématopoïétiques : Régulation (rôle du microenvironnement, facteurs de croissance). Université de Tours [en ligne]. 2004 [consulté le 20 mars 2011]. Disponible sur :
http://fmc.med.univ-tours.fr/Pages/Hemato/DES/A2.pdf

[32] BINET C, DOMENECH J, HERAULT O. Cellules souches hématopoïétiques : Propriétés, description des différents types, schéma de l'hématopoïèse. Université de Tours [en ligne]. 2004 [consulté le 20 mars 2011].
http://fmc.med.univ-tours.fr/Pages/Hemato/DES/A1.pdf

[33] BINET C, DOMENECH J, HERAULT O. Cellules souches hématopoïétiques : propriétés, description des différents types, schéma de l'hématopoïèse. Université de Tours [en ligne]. 2004 [consulté le 20 mars 2011].
http://fmc.med.univ-tours.fr/Pages/Hemato/DES/A1.html

[34] The national institute of health resource for stem cell research. Scientific Progress and Future Research Directions, 2001, chapter 5, p. 43-59.

[35] THIERRY D, CHAPEL A, BERTHO J.M. De la greffe à la thérapie cellulaire. La Recherche [en ligne]. 2001 [consulté le 5 mars 2011]. Disponible sur : http://www.larecherche.fr/content/recherche/article?id=11818

[36] COULOMBEL L. Cellule souches hématopoïétiques et cellules souches mésenchymateuses. Rapport établi à la demande de Roger- Gérard Schwartzenberg, ministre de la recherche, 2000, p. 29-34.

[37] HEQUET O. Greffe de cellules hématopoïétiques. Université de Lyon 1 [en ligne]. [consulté le 22 janvier 2011]. Disponible sur :
http://ispb.univ-lyon1.fr/biothe/Greffes.pdf

[38] PROGRAMME DE GREFFE DE CELLULES SOUCHES HEMATOPOIETIQUES de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont. Les complications [en ligne], 2010 [consulté le 02 avril 2011]. Disponible sur :
http://www.gmo-hmr.org/fr/grandPublic.php

[39] BENSOUSSAN Danièle. Diaporama de cours « les cellules souches hématopoïétiques utilisées en thérapeutique »

[40] Fondation Générale de Santé. Le don de sang de cordon. [en ligne]. [consulté le 29 mai 2011]. Disponible sur :
http://www.sangdecordon.org/comment-donner/maternites-ou-donner/

[41] J-.M. M. Greffe de sang : un mobilisateur des CSHSP. Revue francophone des laboratoires, novembre 2009, volume 2009, n° 416, p.12.

[42] 17ème journée nationale sur les dispositifs médicaux, Europharmat. Biopsie de moelle osseuse. Nantes, 2007, 27 p.

[43] YAKOUB-AGHA I. La greffe de cellules souches hématopoïétiques. Fédération leucémie espoir [en ligne]. 2009 [consulté le 06 février 2011]. Disponible sur :
http://www.leucemie-espoir.org/IMG/pdf/yakoubaghaquimper20091_1_.pdf

[44] Société de Leucémie et Lymphome du Canada. Greffe de cellules souches du sang et de la moelle osseuse. [en ligne]. 2008 [consulté le 06 février 2011]. Disponible sur : http://www.leucemie-espoir.org/IMG/pdf/yakoubaghaquimper20091_1_.pdf

[45] ETABLISSEMENT FRANÇAIS DU SANG, Rhône-Alpes. Banque de Cellules [en ligne], 2007 [consulté le 12 mars 2011]. http://www.biobanques.fr/spip/spip.php?article89

[46] Autogreffe de cellules souches hématopoïétiques en hématologie. Cours d'hématologue. Medix cours de médecine 2003/2010. [en ligne]. [consulté le 25 février 2011]. Disponible sur : http://www.medix.free.fr/sim/autogreffe-cellules-souches.php

[47] EUROPEAN GROUP FOR BLOOD AND MARROW TRANSPLANTATION. Haematopoietic stem cell transplantation, 5ème edition. Forum service editore, 2008, 592 p.

[48] CINQUALBRE J. Abrégés, Greffe d'organe. Editions Masson. 2004.

[49] BONE MARROW DONOR WORLDWIDE. Number of donors / CBU's per registry. http://www.bmdw.org/index.php?id=number_donors&no_cache=1

[50] BENAKLI M, HAMLADJI R.M, AHMED-NACER R. L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques à conditionnement atténué. Société algérienne d'hématologie et de transfusion sanguine, 2008.

[51] CALOP J, LIMAT S, FERNANDEZ C. Pharmacie clinique et thérapeutique, 3ème édition. Masson, 2008.

[52] WILLEMS E, BARON F, VANSTRAELEN G. Immunothérapie du cancer par minigreffe de cellules souches hématopoïétiques. La Revue Médicale Suisse, 2005, vol 30, n° 30602.

[53] Témoignage Lymphome non Hodgkinien et greffe de cellules souches. [en ligne]. [consulté le 26 mars 2011]. Disponible sur : http://www.greffe-cellules-souches.ca/index.html

[54] Le rejet et l'immunosupression. Agence de la biomedecine. [en ligne]. 2011 [consulté le 26 mars 2011]. Disponible sur :
http://www.dondorganes.fr/Le-rejet-et-l-immunosuppression.html

[55] HUMMELSBERGER M. Greffe de cellules souches hematopoietiques et ses complications infectieuses. [en ligne]. [consulté le 20 mars 2011]. Disponible sur :
http://www.infectiologie.com/site/medias/enseignement/seminaires_desc/2005-mai/DESC-mai-2005-Hummelsberger.pdf

[56] National Marrow Donor Program. Recommended post-Transplant Care. [en ligne]. 2011 [consulté le 20 mars 2011]. Disponible sur :
http://www.marrow.org/PHYSICIAN/Medical_Education/Quick_Reference/index.html

[57] MARTIN P, AULAGNER G. La réaction du greffon contre l'hôte. Actualités pharmaceutiques hospitalières, 2009, vol 5, n°20, p. 29-35.

[58] GHAFFAR A, NAGARKATTI P. MHC: Genetics and role in transplantation. Microbiology and Immunology on-line. University of South Carolina School of Medecine.

[59] RIBAUD P. Complications infectieuses des greffes de cellules souches hematopoiétiques allogéniques. Le courrier de la transplantation. Septembre 2002, vol 2, n°3, p.111-114.

[60] FANN J.R, HUBBARD R.A. Manifestations neuropsychiatriques liées aux greffes de cellules souches hématopoïétiques. France hémato, 2011 n° 445.

[61] PEFFAULT DE LATOUR R, BLIN N, SOCIE G. Les complications à long terme des greffes chez l'adulte. Oncologie, 2007, p. 856-860

[62] WEISSMAN I. Stem cell research, Paths to cancer therapies and regenerative medicine. American Medical Association. 2005, vol 294, n°11.

[63] FAGNIEZ P.L. Cellules souches et choix éthiques. La documentation française, 2006, 242 p.

FACULTE DE PHARMACIE **UNIVERSITE HENRI POINCARE - NANCY 1**

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 04/07/2011

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présenté par Maëlle MAUZON

Sujet : Les Cellules Souches Hématopoïétiques : définitions, origines et principales utilisations thérapeutiques

Jury :

Président : Mme Béatrice FAIVRE, Docteur en Pharmacie, MCU-HDR en Hématologie, Faculté de Pharmacie de Nancy.

Juges : Mme Danièle BENSOUSSAN, Docteur en Pharmacie, PH, Unité de Thérapie Cellulaire et Tissus), CHU de Nancy.
Mme Véronique LATGER-CANNARD, Docteur en Médecine, biologiste, PH, Service d'Hématologie Biologique, CHU Nancy.
Mme Béatrice DEMORE, Docteur en pharmacie, MCU-PH en Pharmacie clinique, Faculté de Pharmacie de Nancy, CHU de Nancy

Vu,

Nancy, le 25 Mai 2011

Le Président du Jury Le Directeur de Thèse

Mme Béatrice FAIVRE

Vu et approuvé,

Nancy, le 26 mai 2011

Doyen de la Faculté de Pharmacie
de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1,

UNIVERSITE HENRI POINCARE NANCY 1 - FACULTE de PHARMACIE

Francine PAULUS

Vu,

Nancy, le 6.6.2011

Le Président de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1,

Pour le Président
et par Délégation,
La Vice-Présidente du Conseil
des Etudes et de la Vie Universitaire,

Jean-Pierre FINANCE
C. CARDEVILLE-ATKINSON

N° d'enregistrement : 3638

N° d'identification : 3638

TITRE

Les Cellules Souches Hématopoïétiques :
définition, origines et principales utilisations thérapeutiques

Thèse soutenue le 04 Juillet 2011

Par Maëlle MAUZON

RESUME :

Les cellules souches hématopoïétiques sont à l'origine de l'hématopoïèse et forment toutes les lignées des cellules sanguines. Grâce à leurs capacités d'auto-renouvellement et de différenciation, elles sont utilisées en thérapeutique pour traiter un grand nombre d'hémopathies malignes. Ces traitements se font par des greffes de cellules souches hématopoïétiques qui peuvent être prélevées dans la moelle osseuse, dans le sang circulant ou dans le sang du cordon ombilical.

Dans un protocole de greffe, le patient devra subir un conditionnement par chimiothérapie plus ou moins myéloablative avant de lui greffer soit ses propres cellules souches recueillies au préalable dans le cas d'une greffe autologue, soit celles d'un donneur pour une greffe allogénique. Ce conditionnement représente, avec le rejet, le plus gros risque de la greffe puisque pour les plus intenses, le patient se retrouve en aplasie médullaire totale avec un risque d'infections et de complications très important.

En tant que professionnel de santé, le pharmacien d'officine se doit de jouer un rôle d'information auprès de ses patients afin de les sensibiliser et les conseiller en cas de dons ou en cas de greffes.

MOTS CLES : Cellules souches hématopoïétiques, hématopoïèse, greffes autologues, greffes allogéniques, moelle osseuse, sang circulant, sang de cordon, conditionnement.

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Béatrice FAIVRE	**Hématologie-Génie biologique. Faculté de Pharmacie**	**Bibliographique ☒** **Thème 3, 5**

Thèmes **1 – Sciences fondamentales** **2 – Hygiène/Environnement**
3 – Médicament **4 – Alimentation – Nutrition**
5 - Biologie **6 – Pratique professionnelle**