



ABBREVIATIONS



Liste des Abréviations :

AND	: Adénovirus
AM	: Aplasie Médullaire
BK	: Bacille de Koch
CCR	: Rémission Complète Persistance
CGD	: Culot Globulaire Déleucocyté
<i>CIR</i>	: <i>Conditionnement d'Intensité Réduite</i>
CELLULESNK	: cellules Natural Killer
CMV	: Cytomégalovirus
CNSS	: Caisse Nationale de Sécurité Sociale
CNOPS	: Caisse Nationale des Organismes de Prévoyance Sociale
<i>CPA</i>	: <i>Concentré Plaquettes Aphérèse</i>
CSA	: CELLULES SOUCHES ADULTES
CSH	: Cellules Souches Hématopoïétiques
CSP	: Cellules souches périphériques
<i>CTL</i>	: <i>Cytotoxique lymphocyte T</i>
CUP	: Culot plaquettaire
DDB	: Dilatation Des Bronches
DFS	: Disease Free Survival (survie sans progression)
DF	: Dilution Factor
EBV	: Epstein-Bar-Virus
ES	: Souches Embryonnaires
FAR	: Force d'Action Rapide
FIV	: Fécondation In Vitro
FOI	: Foyers d'Origine Indéterminée
G-CSF	: GRANULOCYTE COLONYSTIMULATING FACTOR
GVHD A	: maladie du greffon contre l'hôte aiguë (Graft Versus Host Disease)
GVHD C	: Réaction du greffon contre l'hôte chronique (Graft Versus Host Disease)
GVL	: effet du greffon contre la leucémie - <i>graft versus leukemia</i>
HIF	: HYPOXIA INDUCIBLE FACTOR
HLA	: Antigène des Leucocytes Humains
<i>HM</i>	: <i>Hémopathies Malignes HSV: Herpes Virus Simplex</i>
<i>HTA</i>	: <i>Hypertension Artérielle</i>
<i>ICT</i>	: <i>Irradiation Corporelle Totale</i>
ICM	: MASSE CELLULAIRE INTERNE
Ig	: Immunoglobulines
IL	: Interleukine

IRM	: Imagerie par Résonance Magnétique
LAL	: Leucémie Aiguë Lymphoïde
LAM	: Leucémie Aiguë Myéloïde
LLC	: <i>Leucémie Lymphoïde Chronique</i>
LMC	: Leucémie Myéloïde Chronique
LNH	: Lymphome Non Hodgkinien
LPS	: <i>Lipopolysaccharides</i>
MAT	: <i>Microangiopathie Thrombotique</i>
MD	: <i>Myélodysplasie</i>
MDH	: Maladie d'Hodgkin
MM	: Myélome Multiple
MO	: <i>Moelle Osseuse</i>
MVO	: Maladie Veino-occlusive
OMS	: Organisation Mondiale de Santé
ORL	: Oto-Rhino-Laryngologie
RAMED	: Régime d'Assistance Médicale aux Ecologiquement Démunis
RC	: Rémission Complète
RIC	: Rémission Incomplète
RP	: Rémission Partielle
RTH	: Radiothérapie
SCID	: Déficit Immunitaire Combiné Sévère
SCF	: Stem Cell Factor
TDM	: Tomodensitométrie
VEGF	: VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR
VZV	: Varicelle-Zona-Virus



PLAN



INTRODUCTION	1
PATIENTS & METHODES	4
I. Matériel	5
II. Méthodes	5
1. type et période d'étude	5
2. collecte des données	5
3. critères d'inclusion	5
4. critères d'exclusion	6
5. saisie et analyse des données	6
6. méthodologie pratique de l'étude :	6
7. limites de notre étude :	11
RESULTATS	12
I. EPIDEMIOLOGIE :	13
1. Age :	13
2. Niveau socio-économique :	14
3. Origine géographique :	15
II. DONNEES CLINIQUES :	16
1. Délai entre la première consultation et la greffe de CSH :	16
2. Délai entre fin de traitement et date de la greffe de CSH :	18
3. Diagnostic avant la greffe :	19
4. Nombre de lignes thérapeutiques reçu avant la greffe de CSH :	20
5. Etat hématologique des patients en pré-greffe :	21
6. Bilan pré-greffe :	22
III. GREFFON :	23
1. Nombre de cellules souches CD34 avant et après procédure :	23
2. Jour de la collecte :	25
3. Durée de l'injection des CSH :	26
4. Type de Greffons :	26
5. Réactions immédiates au cours de la procédure :	26
IV. TOXICITE HEMATOLOGIQUE :	27
1. Durée de l'aplasie médullaire:	27
2. Durée de la neutropénie :	28
3. Durée de la leucopénie :	29
4. Durée de la thrombopénie :	30
V. TOXOCITE EXTRA-HEMATOLOGIQUE :	30
1. Toxicité pulmonaire :	30
2. Toxicité hépatique :	31
3. Toxicité cutanée :	31
4. Toxicité orale et muqueuse:	32
5. Toxicité vésicale :	33
VI. INFECTIONS ET EPISODES FEBRILES :	34
1. Nombre d'épisodes fébriles :	34

2. Durée de la fièvre :	34
3. Types d'infections :	34
4. Documentation microbiologique :	35
5. Résultats :	38
VII. Transfusions :	39
1. Transfusions de globules rouges :	39
2. Transfusions de plaquettes :	42
VIII. DUREE D'HOSPITALISATION :	45
1. Durée moyenne d'hospitalisation :	46
2. Durée moyenne d'hospitalisation en fonction de la pathologie :	47
IX. RESULTATS HEMATOLOGIQUES :	49
1. Résultats immédiats :	49
2. Disease Free Survival (DFS) et survie globale :	50
3. Résultats en fonction de la pathologie :	51
4. Résultats en fonction de l'état hématologique avant la greffe de CSH :	52
5. Analyse des facteurs pronostiques pour la survie globale et la survie sans progression :	53
6. Analyse des rechutes :	54
7. Analyse des décès :	55
8. Reprise de l'activité :	57
DISCUSSION	58
I. Historique :	59
1. L'histoire des cellules souches	59
2. Chronologie et dates des importantes recherches.	60
II. Les cellules souches hématopoïétiques :	62
1. Hématopoïèse	62
2. Sources des HSC :	65
3. Moyens d'étude des cellules souches hématopoïétiques :	67
III. Autogreffe des CSH :	75
1. Prélèvement des cellules souches :	76
2. Contamination du greffon :	81
3. Bilan prégreffe	82
4. Conditionnement	83
5. Indications	84
6. Suivi des patients autogreffés	100
7. Complications de l'autogreffe	101
IV. Allogreffe de CSH :	104
1. Introduction :	104
2. Principes et méthodes	105
3. Réactions immunologiques à l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques	121
4. Autres complications de l'allogreffe :	143
5. Rechutes après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques pour hémopathies malignes :	148

6. Voies de développement et perspectives d'avenir :	150
V. Discussion des résultats :	154
1. Données épidémiologiques :	154
2. Données cliniques :	159
3. Greffon :	165
4. Complications :	168
5. Infections et épisodes fébriles :	173
6. Résultats hématologiques :	176
CONCLUSION	182
ANNEXES	184
RESUMES	193
BIBLIOGRAPHIE	197



INTRODUCTION



La transplantation de cellules souches hématopoïétiques est aujourd'hui un traitement reconnu pour les patients atteints de maladies sévères constitutionnelles ou acquises du système hématopoïétique, elle fait partie du paysage médical quotidien où elle est souvent intégrée dès le début dans un plan thérapeutique.

Dès leur découverte au début du XXe siècle, les cellules souches hématopoïétiques ont suscité un très vif intérêt de la part de la communauté scientifique. Leur capacité de différenciation et d'autorenouveaulement, totalement inédite, en ont fait rapidement les cellules de tous les espoirs.[1]

De très nombreuses équipes en Europe et aux Etats Unis ont travaillé sur la caractérisation, la localisation et l'utilisation des cellules souches hématopoïétiques, mettant ainsi en lumière d'immenses perspectives thérapeutiques.[2]

Grâce aux progrès de l'immunologie, la greffe de moelle osseuse, puis la greffe de cellules souches hématopoïétiques 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 d'autres pathologies tels les déficits immunitaires, les aplasies médullaires...

Les cellules souches autologues ou allogéniques provenant de la moelle osseuse, du sang périphérique ou du sang du cordon ombilical sont utilisées dans de nombreuses maladies. Les procédés de la transplantation sont fonctions des types de dons, de leurs disponibilités, du degré d'urgence de la maladie et des dangers liés à cette transplantation.[3]

Malgré les grands progrès réalisés, cette transplantation est toujours liée à de lourdes contraintes imposant une prise en charge multidisciplinaire et une technique de pointe.

Cette étude analyse les 36 premières greffes (24 autogreffes et 12 allogreffes) réalisées dans le service d'hématologie clinique du Centre Hospitalier Universitaire de Marrakech.

Nous nous proposons dans ce travail d'étudier rétrospectivement l'expérience du service en matière de greffe de moelle de 2012 à 2015. Nous souhaitons à travers cette étude discuter les indications, les modalités de réalisation, les résultats, la place de ces traitements et leurs complications, par rapport aux données et aux séries les plus récentes de la littérature internationale.

Nous avons pensé qu'il serait intéressant de compléter notre travail par un rappel théorique des données épidémiologiques, diagnostiques et thérapeutiques des différentes modalités de greffes de cellules souches.



PATIENTS & METHODES



I. Matériel

Notre matériel d'étude est constitué d'une série de 36 cas de patients greffés au niveau de l'unité de greffe de moelle au service d'hématologie clinique du CHU Mohammed VI de Marrakech entre janvier 2012 et décembre 2015

II. Méthodes

1. type et période d'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive et analytique de 36 patients greffés (24 autogreffes et 12 allogreffes) entre janvier 2012 et décembre 2015

2. collecte des données

Nous avons étudié tous les dossiers des patients cités. Ces dossiers ont servi de base pour l'exploitation de leurs données dans une fiche préétablie (Annexe 1) qui a permis de rassembler les principaux caractères épidémiologiques, cliniques, thérapeutiques et évolutifs ainsi que les modalités de suivi.

3. critères d'inclusion

Dans notre série, nous avons inclus tous les patients dont la greffe de moelle a été réalisée chez eux indépendamment de leur sexe, leur maladie (hémopathie bénigne ou maligne) ou du type de greffe réalisée (autogreffe ou allogreffe)

4. critères d'exclusion

Sont exclus de cette étude les patients présentant une contre-indication à la greffe de moelle (maladie évolutive, infection non contrôlée, maladie rénale, hépatique ou cardiaque) et également les malades décédés avant d'entamer la procédure de greffe.

5. saisie et analyse des données

Les données ont été recueillies à partir des dossiers de patients greffés au niveau du service d'hématologie clinique de Marrakech. Ainsi, nous avons rempli les fiches de patients qui sont ensuite saisies et informatisées sur le logiciel Microsoft Excel, l'exploitation statistique a été réalisée sur le logiciel de traitement statistique (SPSS version 20.0) . Les résultats sont exprimés en pourcentages ou en moyennes en fonction des variables étudiées.

6. méthodologie pratique de l'étude :

6.1. types d'hémopathies :

Les différentes hémopathies se répartissent en leucémie aigue myéloblastique, leucémie aigue lymphoblastique, leucémie myéloïde chronique, déficit immunitaire, aplasie médullaire, thalassémie, myélome multiple, maladie de Hodgkin et lymphome malin non Hodgkinien

6.2. état hématologique au moment de la greffe :

Nous avons greffés les patients en rémission complète de la maladie ou en très bonne réponse thérapeutique concernant les hémopathies malignes (après la première, deuxième ou troisième ligne thérapeutique) ; et en stabilisant la maladie concernant les autres cas (déficit immunitaire, thalassémie, aplasie médullaire).

6.3. bilan pré-greffe :

a. autogreffe :

A son admission pour greffe de CSH, en plus de l'évaluation clinique, des examens complémentaires doivent être réalisés. Il s'agit de :

- ❖ NFS,
- ❖ Bilan d'hémostase : TQ, TCA, Fg,
- ❖ Biochimie: Na, K, Cl, RA, Ca, Phosphore, Urée, Créatinine, Protide, Albumine, Ac.urique, ASAT, ALAT, Bilirubine Totale, directe et indirecte,
- ❖ Coproculture et parasitologie des selles,
- ❖ ECBU,
- ❖ Rx thorax,
- ❖ Echographie abdominopelvienne,
- ❖ ECG et échographie cardiaque
- ❖ Groupage ABO/Rh : 2 déterminations,
- ❖ Recherche des agglutinines irrégulières (RAI),
- ❖ Phénotype Rhésus Kell,
- ❖ Test de Coombs direct
- ❖ Sérologie hépatitiques, HIV, syphilis.

b. Allogreffe :

- ❖ NFS/PLQ
- ❖ Bilan rénal et hépatique
- ❖ Bilan d'hémostase : TP/TCK/FIBRINOGENE
- ❖ *Sérologie hépatitiques B/C, HIV, syphilis.
- ❖ Sérologie toxoplasmose
- ❖ Sérologie EBV, VZV, CMV, HSV1 et 2
- ❖ Groupage Rh phéno

- ❖ RAI-TDC
- ❖ ECBU, parasitologie des selles
- ❖ Radio de thorax
- ❖ Echographie abdominale
- ❖ Echographie cardiaque
- ❖ Evaluation de l'état bucco-dentaire

6.4. conditions d'hospitalisation :

Tous les malades étaient isolés en secteur protégé, dans une chambre à flux laminaire, avec des mesures d'asepsie très strictes et une hygiène soignée du malade.

6.5. surveillance clinique :

Un examen clinique complet était réalisé 2 fois par jour (matin /soir). La température axillaire était surveillée toutes les 3 heures ainsi que la fréquence cardiaque et la pression artérielle (monitoring et scope). La diurèse était relevée 1 fois par jour, la pesée était effectuée 1 fois par jour.

6.6. voie d'administration des médicaments :

Tous nos patients étaient porteurs d'un cathéter central (fémoral, sous-clavier) ou chambre implantable

6.7. surveillance biologique :

Tous les jours était pratiqué chez nos patients les bilans suivants : hémogramme, ionogramme complet, urée, créatinine, bilan d'hémostase, bilan hépatique (ASAT, ALAT, BT), CRP.

Les dosages de la ciclosporine étaient réalisés deux fois par semaine (laboratoire de ville)

La recherche d'infections virales (CMV, BK virus, HHV6, HHV8) était réalisée 1 fois par semaine (Institut Pasteur de Casablanca)

Le dosage des antibiotiques n'était pas encore disponible dans notre CHU durant la période d'étude

6.8. surveillance radiologique :

Une radiographie du thorax était réalisée de façon systématique 1 fois par semaine (en dehors de tout point d'appel infectieux pulmonaire). Elle est réalisée aussi si le malade présente une symptomatologie respiratoire.

Une TDM thoracique, abdominale et cérébrale ; de même qu'une IRM ont été indiqués selon la symptomatologie

Les autres examens d'imagerie sont demandés en fonction des complications des malades

6.9. surveillance microbiologique :

Des prélèvements des voies aérodigestives supérieures, et urines (ECBU) et des selles (coprocultures) étaient réalisés deux fois par semaine et adressés au laboratoire de bactériologie, et parasitologie. A la demande et selon la clinique, des prélèvements au niveau de tout foyer infectieux potentiel étaient effectués.

6.10. prophylaxie systématique :

Les bains de bouche ont été fait par du Caphosol ®

Chez les malades allogreffés une prophylaxie par le fluconazol et aciclovir a été indiquée.

La prophylaxie des ulcères gastroduodénaux a été réalisée par l'omeprazole

6.11. stratégie thérapeutique en cas d'épisode fébrile :

En cas de neutropénie fébrile sont réalisées systématiquement : hémocultures, ECBU, coproculture et radiographie du thorax.

Une antibiothérapie empirique visant à couvrir les germes fréquemment rencontrés au service associant la ceftazidim et amikacine est indiquée en première ligne.

En cas d'échec thérapeutique (absence de défervescence thermique dans les 48 heures), l'antibiothérapie était alors adaptée en fonction des preuves bactériologiques fournies par les prélèvements.

Un traitement de 2^{ème} ligne est indiqué comportant imipenem ou vancomycine ou fluconazole ou voriconazole en fonction de la clinique rencontrée

En cas de succès thérapeutique (défervescence thermique obtenue en moins de 48 heures et suivie d'une apyrexie - température inférieure à 37.5°C - accompagnée en outre d'une amélioration clinique s'amorçant aussi dans les 48 heures), l'antibiothérapie était alors poursuivie par voie intraveineuse jusqu'à la récupération de la neutropénie.

6.12. Alimentation parentérale :

Elle n'était pas systématique, elle était introduite si présence d'atteinte des muqueuses buccales à type de mucite, d'herpès buccal, ou de muguet à dose de 35 à 45 Cal/kg/24h.

6.13. Produits sanguins :

La transfusion en plaquettes était indiquée si le chiffre des plaquettes était inférieur à 20000/mm³ et la transfusion en culot globulaire était indiquée si le chiffre de l'hémoglobine était inférieur à 8g/dl.

Tous les produits sanguins administrés étaient déleucocytés et irradiés.

6.14. régime de conditionnement :

Les régimes de conditionnement dépendent du type de greffe et de la maladie

Pour le myélome, le protocole utilisé est le melphalan haute dose.

Pour le lymphome malin non Hodgkinien et la maladie d'Hodgkin, le protocole utilisé est le BEAM (BCNU, Aracytine, étoposide, Melphalan).

Pour l'allogreffe d'aplasie médullaire, nous avons utilisé l'association sérum antilymphocytaire et cyclophosphamide.

Pour l'allogreffe de leucémie aigue myéloblastique, nous avons eu recours au protocole associant le busulfan et le cyclophosphamide.

Concernant le déficit immunitaire SCID, aucun régime de conditionnement n'est utilisé.

ET a propos du déficit HLA classe II, nous avons utilisé la fludarabine et le busulfan.

Le protocole associant le busulfan, cyclophosphamide et thiotepa été indiqué dans la thalassémie.

6.15. traitement immunosuppresseurs :

Tous nos malades allogreffés (en dehors du déficit immunitaire de type SCID) ont reçu une immunosuppression à base de ciclosporine dans un but de prévenir la réaction de greffon contre l'hôte. Les dosages se faisaient deux fois par semaine dans un laboratoire de ville durant la période d'étude. L'adaptation des doses à été réalisée si la valeur retrouvée se situait en dehors de la dose thérapeutique. La ciclosporine était administrée en hospitalisation par voie intraveineuse, et à la sortie de l'hôpital, elle était prise par voie orale pendant une durée de 6 mois à 1 an.

7. limites de notre étude :

L'absence de certaines informations importantes dans les dossiers, comme l'imprécision sur les antécédents ou l'histoire clinique et thérapeutique des malades (malade traités auparavant dans d'autres centres) ne nous a pas permis de rechercher quelques données épidémiologiques . De même, le faible échantillon de notre étude ne nous a pas permis de comparer nos résultats avec la littérature qui disposent de séries beaucoup plus grandes.



RESULTATS



I. EPIDEMIOLOGIE :

1. Age :

1.1. Autogreffe :

Un total de 24 patients autogreffés a été colligé. L'âge moyen est de 49 ans avec des extrêmes entre 27 et 66 ans.

L'âge médian de nos patients était de 54 ans.

Que la moitié des patients se situait dans la tranche d'âge (56-65 ans) suivi par la tranche d'âge (25-35 ans). La tranche d'âge 36-45 ans se situe en dernière position avec 12,5% des cas (Figure1).

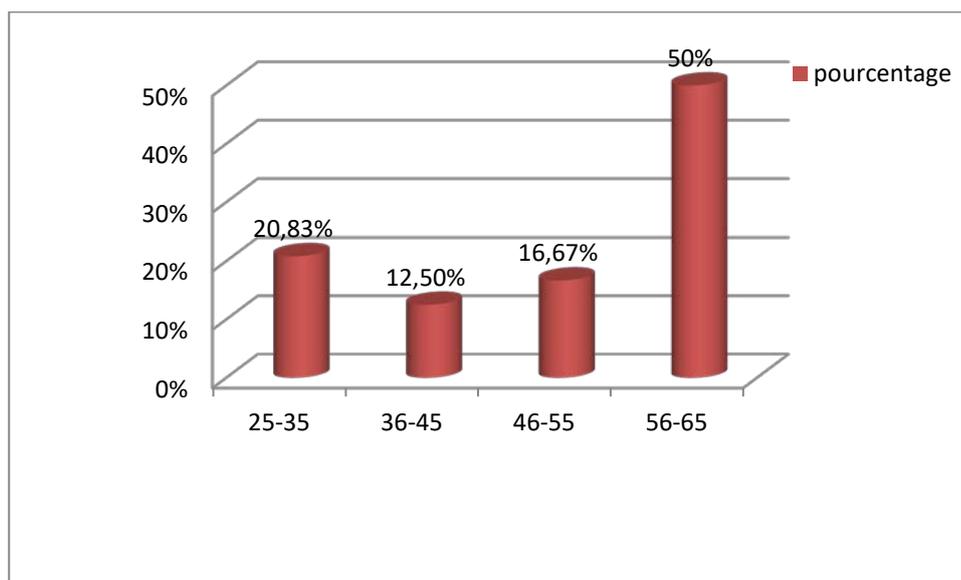


Figure1: Répartition des patients autogreffés selon les tranches d'âge

1.2. Allogreffe :

Douze patients allogreffés ont été colligés. L'âge moyen est de 12 ans avec des extrêmes entre 01 et 34 ans.

L'âge médian de nos patients était de 7 ans.

Les enfants qui avaient moins de 10 ans représentent la tranche d'âge la plus fréquente. Les sujets âgés de plus de 31 ans représentent la tranche d'âge la moins fréquente (Figure 2).

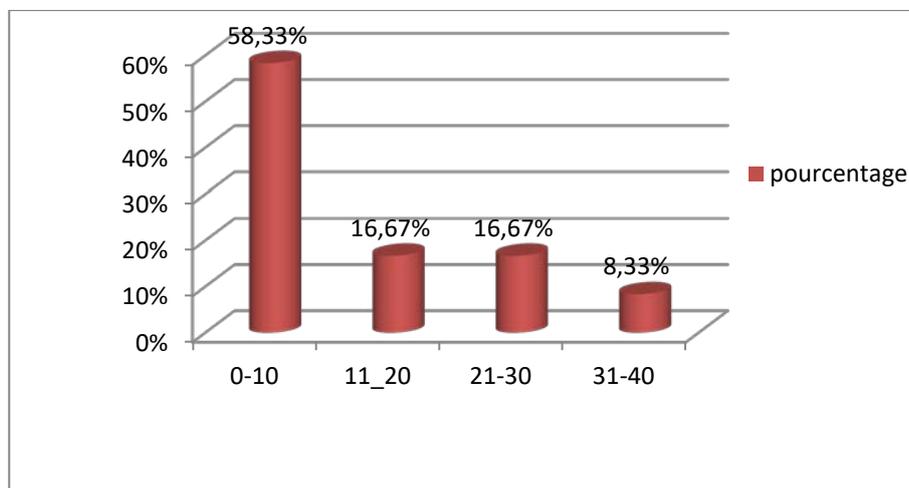


Figure2: Répartition des patients allogreffés selon les tranches d'âge

2. Sexe :

2.1. Autogreffe :

L'étude de la répartition selon le sexe a montré une prédominance masculine avec 16 hommes, soit 66,70% des cas contre 8 femmes, soit 33,30% des cas.

Le sexe ratio H/F était de 2.

Les 22 malades porteurs d'un MM avaient un âge moyen de 48,8 ans (extrêmes : 30-66) et se répartissent en 16 hommes et 6 femmes.

Le patient porteur d'une MDH avait 27 ans et était de sexe féminin.

Le patient porteur d'un LMNH avait 27 ans et était de sexe féminin.

2.2. Allogreffe :

L'étude de la répartition selon le sexe a montré une égalité des deux sexes.

Le sexe ratio H/F était à 1.

Les 4 patients porteurs d'une aplasie médullaire avaient un âge moyen de 15 ans

(extrêmes : 08-21) et se répartissent en 3 filles et 1 garçon.

Les 2 patients porteurs d'une béta-thalassémie avaient un âge moyen de 3,5 ans et se répartissent en 1 fille et 1 garçon.

Les 3 patients porteurs d'un déficit immunitaire avaient un âge moyen de 3,3 ans et se répartissent en 1 fille et 2 garçons.

Le patient porteur d'une LAM avait 34 ans et était de sexe masculin.

Le patient porteur d'une LMC avait 30 ans et était de sexe masculin.

Le patient porteur d'une LAL avait 07 ans et était de sexe masculin.

3. Niveau socio-économique :

Vingt-deux patients (soit 61,12%) avaient une couverture sociale type RAMED.

Six patients (soit 16,67%) avaient une couverture sociale type CNSS et cinq patients (soit 13,89%) avaient une couverture type CNOPS.

Deux de nos patients avaient une couverture type FAR (5,55%) et un seul patient était payant (autogreffe). (Figure 3)

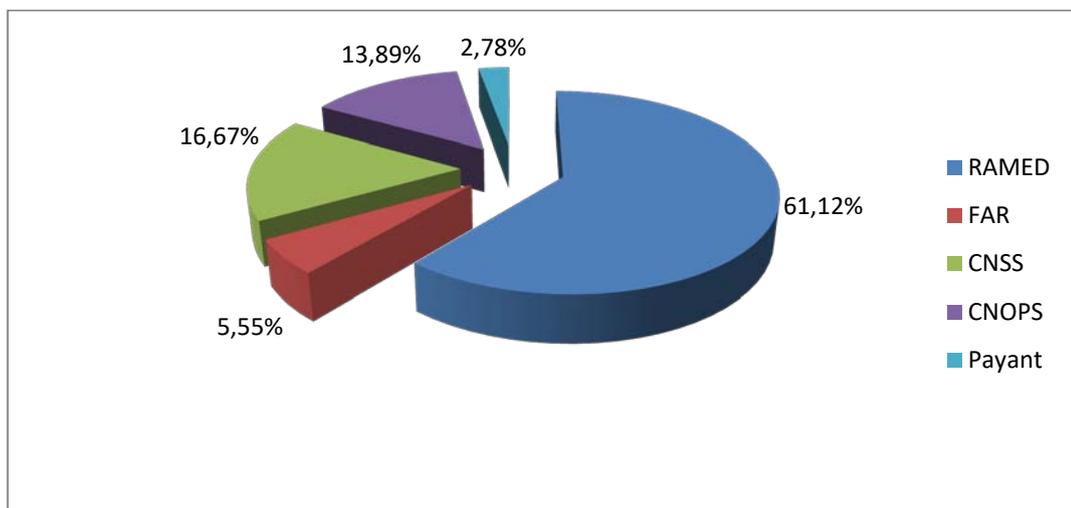


Figure 3 : Répartition des patients selon leurs couvertures sociales

4. Origine géographique :

La majorité de nos patients étaient résidents à Marrakech. Leurs nombres étaient de 15 cas, soit 41,7%.

Sept patients étaient résidents à Safi soit 19,44%, quatre patients à Nador soit 11,11% (figure 4).

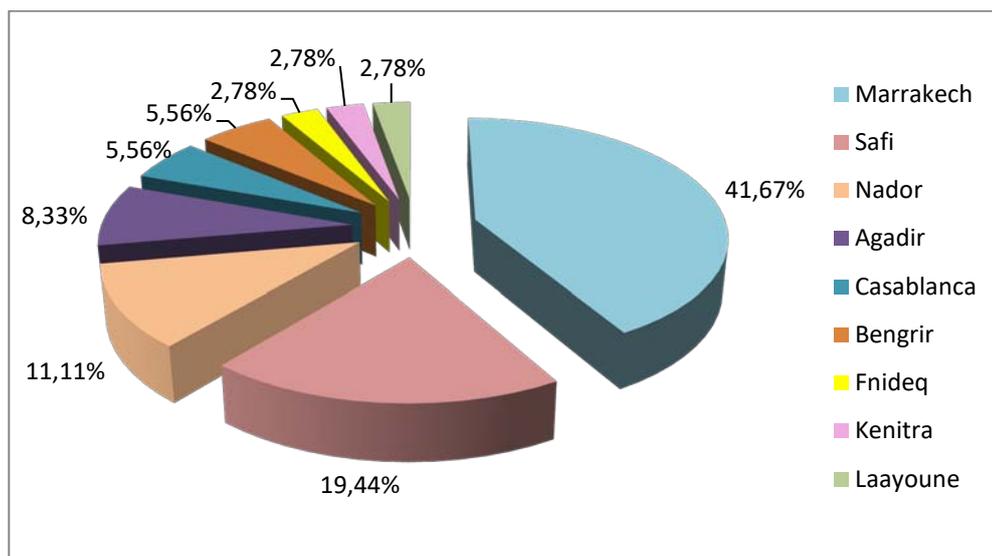


Figure 4 : Répartition des patients selon leur origine géographique

II. DONNEES CLINIQUES :

1. Délai entre la première consultation et la greffe de CSH :

1.1. Autogreffe :

Le délai moyen des patients ayant bénéficié d'une greffe autologue était de 12,75 mois avec des extrêmes allant de 7 à 20 mois (écart-type : 4,2; médiane : 12 mois).

Treize patients ont été greffés dans un délai de moins de 12 mois compté à partir de leur 1^{ère} consultation contre onze patients qui ont été greffés dans un délai dépassant 12 mois de leur 1^{ère} consultation (Tableau I).

Tableau I: Répartition des patients selon le délai entre la 1^{ère} consultation et la greffe de CSH

Délai	Nombre de cas	Pourcentage
<6 mois	0	0%
Entre 6 et 12 mois	13	54,16%
Entre 12 et 18 mois	9	37,5%
>18 mois	2	8,34%

Concernant les deux patients ayant été greffés dans un délai dépassant les 18 mois, ils étaient connus porteurs de MM et étaient des mauvais répondeurs à la chimiothérapie.

1.2. Allogreffe :

Le délai moyen des patients ayant bénéficié d'une greffe allogénique était de 17,5 mois avec des extrêmes allant de 3 à 96 mois (écart-type : 26,68 ; médiane : 6mois).

Neuf de nos patients ont pu être greffés dans un délai de moins de 17,5 mois compté à partir de la date de leur 1^{ère} consultation contre seulement trois de nos patient qui ont été greffés dans un délai dépassant 17,5 mois de leur 1^{ère} consultation (Tableau II).

Tableau II: Répartition des patients selon la délai entre la 1^{ère} consultation et la greffe de CSH

Délai	Nombre de cas	Pourcentage
<3 mois	0	0%
Entre 3 et 6 mois	6	50%
Entre 6 et 12 mois	3	25%
Entre 12 et 24 mois	1	8,33%
>24 mois	2	16,67%

Concernant les deux patients qui ont été greffés au-delà de 24 mois, un était porteur d'une hémopathie maligne à type de LMC, et était un mauvais répondeur à la chimiothérapie et l'autre était porteur d'hémoglobinopathie à type de béta-thalassémie. Le retard de la greffe était dû au non disponibilité des médicaments.

2. Délai entre fin de traitement et date de la greffe de CSH :

2.1. Autogreffe :

Le délai moyen des patients ayant bénéficié d'une greffe autologue était de 5,5 mois avec des extrêmes allant de 01 à 12 mois (écart-type : 2,84; médiane : 5 mois).

Treize de nos patients soit 54,17% des cas ont pu bénéficier d'une autogreffe dans un délai ne dépassant pas une moyenne de 05 mois contre onze patients soit 45,83% des cas qui ont bénéficié de l'autogreffe après 05 mois de délai compté entre la fin de leur traitement reçu et la date de la greffe de CSH (Tableau III).

Tableau III: Répartition des patients selon le délai moyen de prise en charge entre la fin de leur traitement et la date de la greffe de CSH.

Délai	Nombre de cas	Pourcentage
Entre 01 et 05 mois	13	54,17%
Entre 06 et 12 mois	11	45,83%

Il n'y a pas eu de retard de prise en charge pour la majorité de nos patients.

2.2. Allogreffe :

Le délai moyen des patients ayant bénéficié d'une greffe allogénique était de 2,4 mois avec des extrêmes allant de 01 à 05 mois (écart-type : 1,2; médiane : 2 mois).

Neuf de nos patients soit 75% des cas ont bénéficié d'une allogreffe dans un délai ne dépassant pas une moyenne de 2,4 mois contre seulement 25 % de nos patients qui ont bénéficié de l'allogreffe après 2,4 mois de délai compté entre la fin de leur traitement reçu et la date de la greffe de CSH (Tableau IV).

Tableau IV : Répartition des patients selon le délai moyen de prise en charge entre la fin de leur traitement et la date de la greffe de CSH.

Délai	Nombre de cas	Pourcentage
Entre 01 et 03 mois	9	75%
Entre 04 et 06 mois	3	25%

De même pour l'allogreffe, la prise en charge était dans le plus bref délai, il n'y a pas eu de retard surtout pour nos patients n'ayant pas nécessité un traitement de chimiothérapie initiale.

3. Diagnostic avant la greffe :

3.1. Autogreffe :

Dans notre série, vingt-deux patients étaient suivis pour Myélome multiple (MM) soit 91,66% des cas.

Une patiente était porteuse de maladie de Hodgkin et une autre patiente porteuse de Lymphome malin non hodgkinien (figure 5).

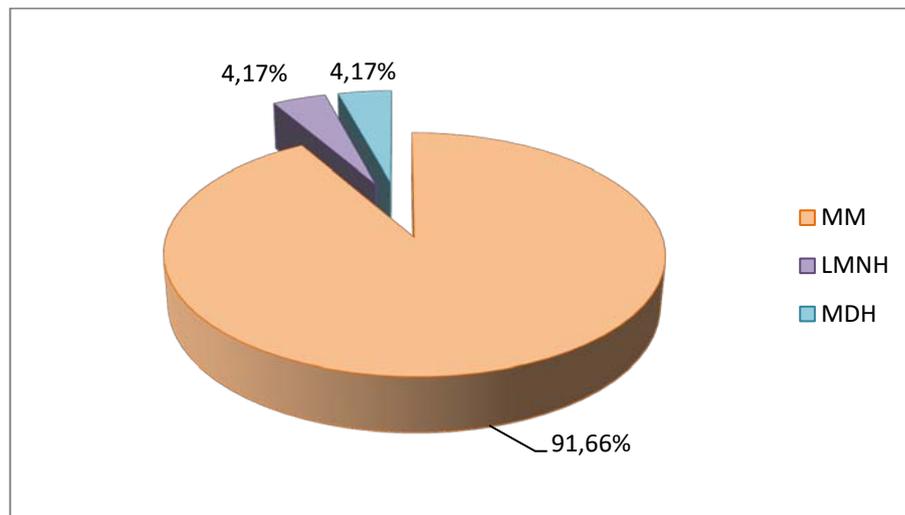


Figure 5 : Répartition des patients selon leur diagnostic

On a noté que la pathologie la plus fréquente dans notre formation était le myélome multiple (22 cas) contre seulement 1 cas de LMNH et 1 cas de LNH.

3.2. Allogreffe :

Dans notre série, Cinq patients étaient suivis pour aplasie médullaire soit 33,33%.

Trois patients étaient suivis pour un SCID soit 25% des cas.

Deux patients étaient suivis pour une hémoglobinopathie à type de béta-thalassémie soit 16,7% des cas.

Un patient suivi pour LAM, un patient suivi pour LMC et un autre pour LAL (figure 6)

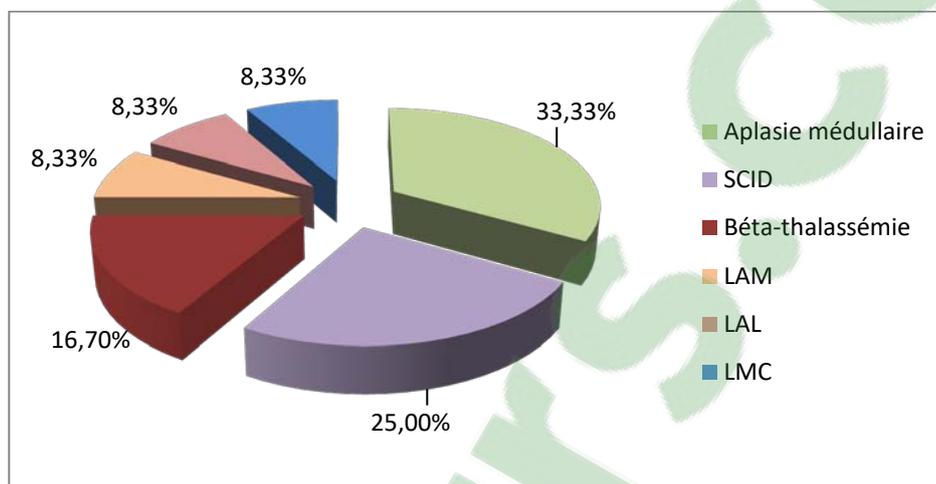


Figure 6: Répartition des patients selon leur diagnostic

Différentes pathologies ont été colligées dans notre étude avec une légère prédominance des aplasies médullaires (5 cas).

4. Nombre de lignes thérapeutiques reçu avant la greffe de CSH :

4.1. Autogreffe :

Dix-sept de nos patients avaient reçu une chimiothérapie première soit 70,83%, dont 14 étaient en rémission complète et 3 en rémission partielle.

Trois de nos patients étaient en rechute et ont reçu une chimiothérapie de 2^{ème} ligne soit 12,5%, dont un seul patient était en rémission complète et deux en rémission partielle.

Quatre de nos patients étaient en rechute après la chimiothérapie de 2^{ème} ligne et ont reçu une chimiothérapie de 3^{ème} ligne soit 16,67%, dont deux ont été en rémission complète et deux en rémission partielle (Figure 7).

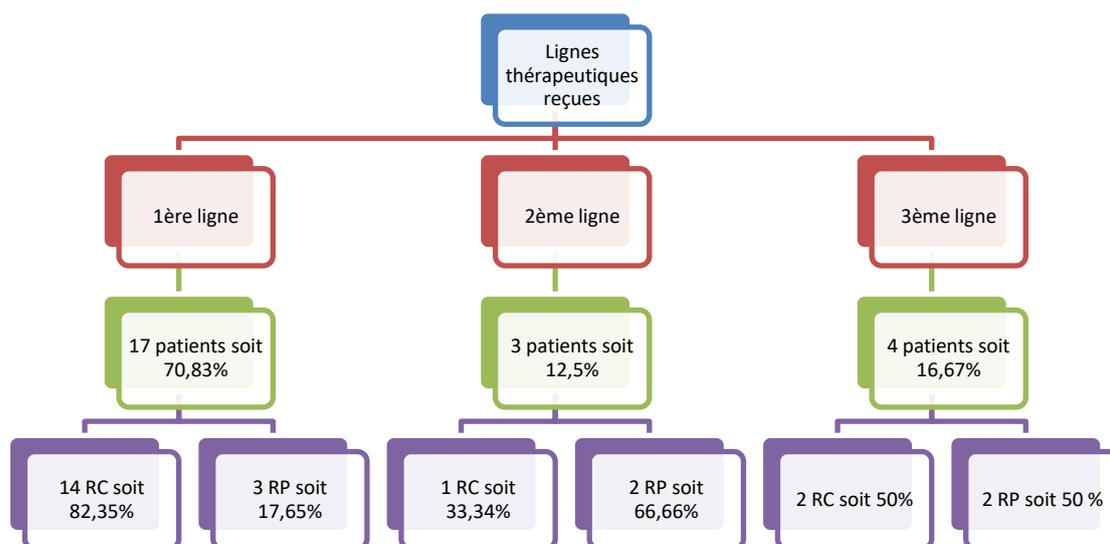


Figure 7 : Répartition des patients selon le nombre de lignes thérapeutiques reçues et leurs statuts pré-greffe.

4.2. Allogreffe :

Les pathologies colligées dans cette série et traitements réalisés avant l'allogreffe sont répertoriés dans le tableau : (Tableau V)

Tableau V: Répartition des patients selon les traitements reçus avant la greffe en fonction de leurs pathologies.

Type de pathologies	Nombre de patients	Lignes thérapeutiques		
		1ère ligne	2ème ligne	3ème ligne
Hémopathies malignes :				
• LMC	1 patient soit 8,33%	IMATINIB	NILOTINIB	-
• LAL	1 patient soit 8,33%	MARALLO6	BFM+VHR	-
• LAM	1 patient soit 8,33%	AML 03	AML 10	-
Hémoglobinopathies type bêta-thalassémie	2 patients soit 16,67%	Chélateurs de fer + transfusions sanguines		
Déficit immunitaire	2 patients soit 16,67%	Immunoglobines		
Aplisie médullaire	5 patients soit 41,67%	Transfusions sanguines- ciclosporine		

5. Etat hématologique des patients en pré-greffe :

5.1. Autogreffe :

Dix-huit de nos patients étaient en rémission complète (RC) soit 75% des cas.

Dont dix-sept ont été porteurs de MM et 1 porteur de LNH.

Contre six de nos patients étaient en rémission partielle (RP) soit 25% des cas, dont cinq ont été porteurs de MM et 1 porteur de MDH(Figure 8).

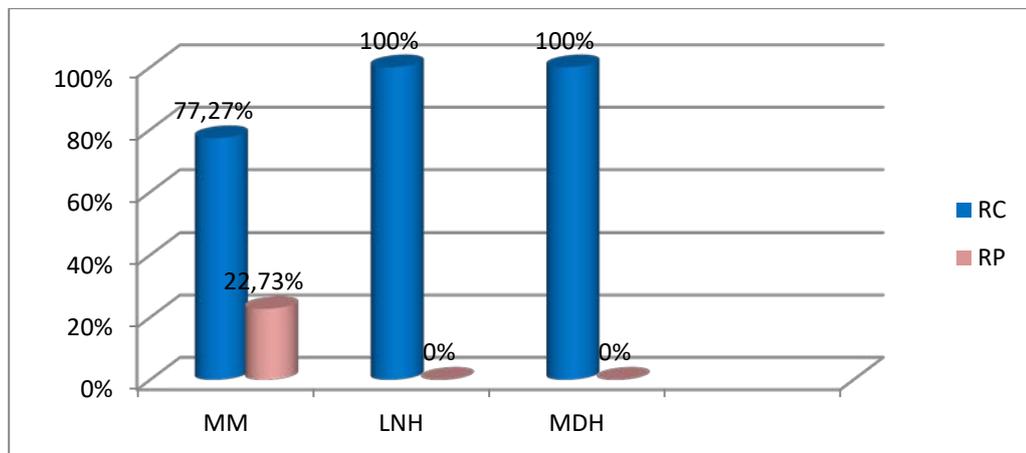


Figure 8: Répartition des patients selon leur état hématologique pré-greffe en fonction de leurs pathologies.

5.2. Allogreffe :

Chez trois de nos patients connus porteurs d'hémopathies malignes (LMC, LAM, LAL) ayant reçus une chimiothérapie première, deux étaient en rémission complète et un était en rémission partielle.

Les autres patients ont bénéficié d'autres alternatives thérapeutiques déjà citées dans le tableau ci-dessus.

6. Bilan pré-greffe :

6.1. Autogreffe :

Pour nos patients candidats à l'autogreffe :

- Trois patients sur vingt-quatre avaient présentés des anomalies au bilan soit 12,5% des cas :

- 1 patient était porteur d'une HVC
- 1 patient était porteur d'une HVB
- 1 patient avait un foie stéatosique à l'échographie abdominale

- Pour le reste des malades soit 87,5 % des cas, le bilan pré-greffe était normal.

6.2. Allogreffe :

Le bilan pré-greffe était réalisé chez tous nos patients, il est revenu normal dans tous les cas.

III. GREFFON :

1. Nombre de cellules souches CD34 avant et après procédure :

1.1. Résultats autogreffes :

Les patients n'ayant pas atteints le seuil requis en CSH pour une bonne prise de greffe ont été exclus de notre série.

La numération de cellules souches CD34 avant la procédure a été réalisée pour une dizaine de malades en 2012, mais malheureusement pour des contraintes techniques, elle n'a plus été faite. On s'était contenté de la numération des CD34 après procédure pour évaluer la qualité du greffon dont la valeur de référence varie de 2 à 2,5 x 10⁶.

Dans notre série de 24 patients, tous nos patients ont eu un seuil positif témoignant d'une bonne qualité du greffon et donc autorisant l'autogreffe (Tableau VI).

Tableau VI: Numération des CSH (GB et CD34) des patients autogreffés

Nombre de cas	Numération des GB	Numération des CD34
1	200.000	7 x 10 ⁶
2	234.000	13 x 10 ⁶
3	218.000	15 x 10 ⁶
4	213.000	12 x 10 ⁶
5	220.000	34 x 10 ⁶
6	176.000	33 x 10 ⁶
7	180.000	6,6 x 10 ⁶
8	100.000	2,6 x 10 ⁶
9	102.000	2,8 x 10 ⁶
10	280.000	45 x 10 ⁶
11	150.000	10,2 x 10 ⁶
12	167.000	17,9 x 10 ⁶
13	180.000	2,3 x 10 ⁶
14	250.000	22,6 x 10 ⁶
15	236.000	15,7 x 10 ⁶
16	178.000	5,4 x 10 ⁶
17	188.000	7,9 x 10 ⁶
18	156.000	21,9 x 10 ⁶
19	200.000	8 x 10 ⁶
20	220.000	10 x 10 ⁶
21	59.000	2,5 x 10 ⁶
22	49.000	2,7 x 10 ⁶
23	145.000	5,5 x 10 ⁶
24	299.000	25 x 10 ⁶

La valeur moyenne de la numération des CD34 était de 13,7 x 10⁶ avec des extrêmes allant de 2,3 x 10⁶ à 45 x 10⁶(médiane : 10 x 10⁶; écart-type : 11,4).

Quinze patients soit 62,5 % des cas avaient eu des CD34 inférieurs à 13,7 x 10⁶ contre 37,5 % des cas qui étaient supérieurs à 13,7 x 10⁶.

2. Jour de la collecte :

2.1. Autogreffe :

Tous nos patients ont bénéficié d'une administration de G-CSF de 15microgramme/kg /jr durant la période de mobilisation des CSH.

Neuf patients seulement de notre série soit 37,5% ont nécessité une deuxième collecte de cellules souches contre vingt-deux patients soit 62,5% dont la procédure de cytophérèse était réussie dès le 1^{er} jour de la collecte. (Figure 9)

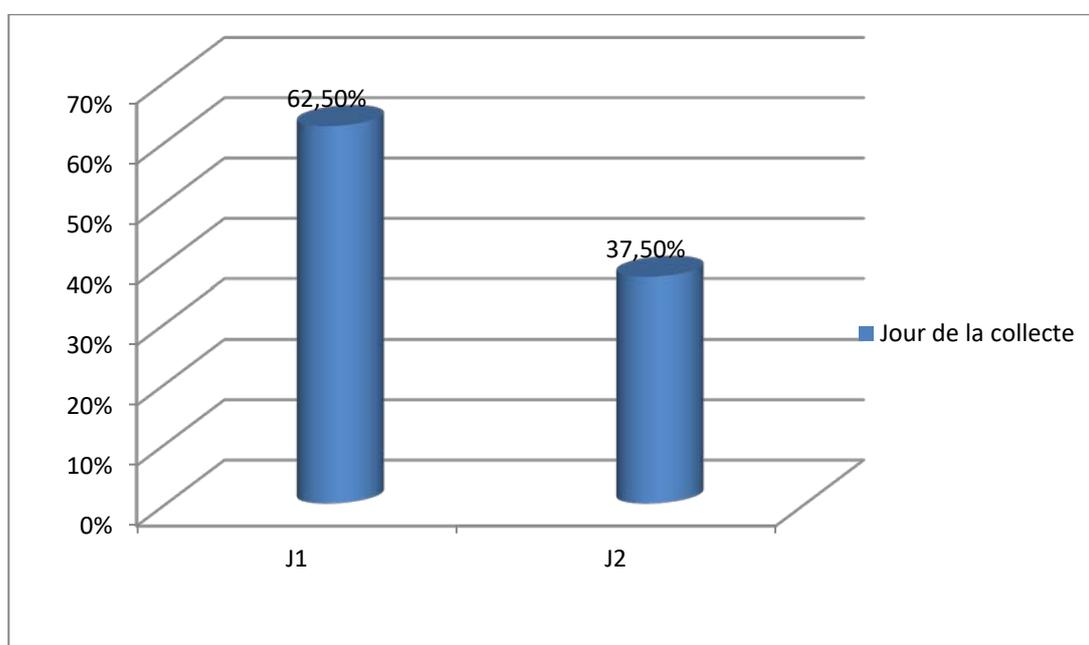


Figure 9: Répartition des patients selon le jour de la collecte de CSH

L'échec de la collecte était dû pour huit patients sur neuf au nombre insuffisant de CD34 qui était inférieur à la valeur de référence ($CD34 > 2,5 \times 10^6$), et pour le neuvième patient, l'échec de la procédure était dû au statut hématologique du patient, il était en rechute.

2.2. Allogreffe :

La procédure était différente pour les patients candidats à l'allogreffe.

Onze de nos patients soit 91.67% ont bénéficié d'une allogreffe de moelle osseuse

prélevée à partir d'un donneur compatible au bloc opératoire par des ponctions *dans les os cubassins*, sous anesthésie générale contre un seul patient seulement qui a été greffé à partir de cellules souches périphériques, et était porteur d'une LMC.

3. Durée de l'injection des CSH :

3.1. Autogreffe :

Tous les patients ont reçu une prémédication la veille de la greffe (HYDROXYZINE : ATARAX®).

La durée de la perfusion des CSH était entre 1h et 1h 30 min.

3.2. Allogreffe :

La durée moyenne de perfusion était de 2heures pour chaque poche de CSH reçue.

4. Type de Greffons :

4.1. Autogreffe :

Le greffon a été prélevé par cytophérèse et réalisé par des cellules souches périphériques pour tous nos malades.

4.2. Allogreffe :

Un cas a été greffé par des CSH périphériques pour le patient connu porteur de LMC et les autres à partir d'un greffon médullaire.

5. Réactions immédiates au cours de la procédure :

5.1. Autogreffe :

Sur notre série de 24 autogreffes, seulement deux patients ont présentés des réactions au cours de la procédure de cytophérèse.

Ces réactions étaient pour l'un de nos malades à type de tremblements des extrémités dus au fait de l'hypocalcémie qui ont cédé après administration intraveineuse de Calcium, et pour l'autre malade, il avait présenté des vomissements qui ont répondu au traitement symptomatique (antiémétiques+ hydratation).

5.2. Allogreffe :

Sur notre série de 12 allogreffes, 2 patients ont présenté des réactions allergiques.

Il a été noté :

- Une hémolyse chez un patient : le donneur et le receveur étaient de groupe ABO/Rh différent. Le patient avait un taux des anticorps anti-A supérieur à 1/67.
L'hémolyse s'est améliorée après une bonne réhydratation du malade.
- Un syndrome hémorragique chez un déficit immunitaire d'étiologie inexpliquée.

IV. TOXICITE HEMATOLOGIQUE :

Le traitement lourd éradicateur a pour conséquence une aplasie médullaire sévère. La greffe de moelle effectuée après ce traitement a pour but de réparer cette aplasie. La cinétique de réparation hématologique des greffes est aisément surveillée par des hémogrammes quotidiens ; elle se mesure donc sur les durées de la neutropénie, de la leucopénie et de la thrombopénie qui sont établies à partir du jour de la réinjection de moelle (J0 par convention).

1. Durée de l'aplasie médullaire:

1.1. Autogreffe :

Le délai moyen de l'aplasie chez nos patients autogreffés était de 7,8 jours avec des extrêmes allant de 06 à 11 jours (écart-type : 1,17 ; médiane : 7.1 jours).

1.2. Allogreffe :

Le délai moyen de l'aplasie médullaire chez nos patients allogreffés était de 24 jours avec des extrêmes allant de 14 à 30 jours (écart-type : 5,2; médiane : 26 jours).

A noter que deux de nos patients porteurs de SCID, n'ont pas été en aplasie médullaire puisqu'ils n'ont pas reçu de conditionnement.

2. Durée de la neutropénie :

C'est le nombre de jours à compter de jour J0 nécessaire à la récupération de 500 polynucléaires neutrophiles par mm³.

2.1. Autogreffe :

a. Durée médiane de la neutropénie :

Un taux de polynucléaires neutrophiles égal à 500 /mm³ a été obtenu après un délai médian de 07 jours avec des extrêmes allant de 05 à 12 jours (écart-type : 1,48, moyenne : 7,25 jours).

b. Durée médiane de la neutropénie en fonction de la pathologie (Tableau VII) :

Tableau VII: Durée médiane et moyenne de la neutropénie selon les pathologies

Pathologie	Nombre de cas	Durée médiane	Durée moyenne
MM	22	07 jours	07 jours
LMNH	1	10 jours	-
MDH	1	12 jours	-

On constate que la durée de la neutropénie a été la plus longue dans les cas de LMNH et MDH.

2.2. Allogreffe :

a. Durée médiane de la neutropénie :

Un taux de polynucléaires neutrophiles égal à 500 /mm³ a été obtenu après un délai médian de 19,5 jours avec des extrêmes allant de 14 à 26 jours (**écart-type : 4,4 ; moyenne : 20,3 jours**).

b. Durée médiane de la neutropénie en fonction de la pathologie (Tableau VIII) :

Tableau VIII: durée médiane et moyenne de la neutropénie selon les pathologies

Pathologie	Nombre de cas	Durée médiane	Durée moyenne
Aplasie médullaire	5	26 jours	25,5 jours
Béta-thalassémie	2	25,5 jours	25,5 jours
Hémopathies malignes (LAM/LMC/LAL)	3	27 jours	24,6 jours

A noter que les SCID n'ont pas fait de neutropénie vu qu'ils n'ont pas reçu de conditionnement.

3. Durée de la leucopénie :

3.1. Autogreffe :

Un taux de globules blancs égal à 1.000 /mm³ a été obtenu après un délai médian de 07 jours avec des extrêmes allant de 06 à 10 jours (**écart-type : 1,05 ; moyenne : 7,4 jours**).

3.2. Allogreffe :

Un taux de globules blancs égal à 1.000 /mm³ a été obtenu après un délai médian de 22 jours avec des extrêmes allant de 14 à 25 jours (**écart-type : 3,6 ; moyenne : 20,8 jours**).

4. Durée de la thrombopénie :

4.1. Autogreffe :

Un taux de plaquettes égal à 50.000 /mm³ a été obtenu après un délai médian de 9,5 jours avec des extrêmes allant de 05 à 16 jours (écart-type : 3,78 ; moyenne : 10,4 jours).

4.2. Allogreffe :

Un taux de plaquettes égal à 50.000 /mm³ a été obtenu après un délai médian de 19,5 jours avec des extrêmes allant de 18 à 26 jours (écart-type : 3; moyenne : 20,4 jours).

V. TOXOCITE EXTRA-HEMATOLOGIQUE :

1. Toxicité pulmonaire :

1.1. Autogreffe :

Deux de nos patients ont présenté une pneumopathie interstitielle.

Un patient était porteur du MM et avait reçu un conditionnement par du Melphalan haute dose.

Et un patient était porteur d'un LNH et avait reçu un conditionnement avec le protocole BEAM.

L'évolution était favorable sous traitement.

1.2. Allogreffe :

Un patient avait présenté une pneumopathie interstitielle. Il était porteur d'un SCID dont l'évolution était favorable sous traitement.

Et un patient était porteur de LAM, l'évolution était marquée par le décès du patient suite à une réactivation du CMV.

2. Toxicité hépatique :

2.1. Autogreffe :

Il n'a pas été noté de maladie veino-occlusive du foie chez nos patients autogreffés.

2.2. Allogreffe :

Quatre patients ont présenté une maladie veino-occlusive du foie:

- Une MVO est survenue au 15^{ème} jour après la greffe chez un malade porteur de béta-thalassémie et ayant reçu un conditionnement par du Busulphan et du Fludarabine.
- Deux MVO sont survenues au 20^{ème} jour après la greffe chez deux malades porteurs d'une LAM et d'une aplasie et ayant reçu le même conditionnement par du Busulphan, du cyclophosphamide et du sérum anti-lymphocytaire.
- Une MVO est survenue au 30^{ème} jour après la greffe chez un malade porteur de LAL et ayant reçu un conditionnement d'intensité réduite par du Fludarabine et du cyclophosphamide.

Un malade sur quatre était décédé par MVO, l'évolution était favorable sous traitement symptomatique pour les autres malades (administration de diurétiques avec restriction hydrique).

3. Toxicité cutanée :

3.1. Autogreffe :

Tous nos malades ont présenté une alopecie.

3.2. Allogreffe :

La réaction du GVH est la principale complication de l'allogreffe de CSH et sa survenue est associée à une morbi-mortalité importante.

Cinq de nos patients soit 41,67% des cas n'ont pas présenté cette complication cutanée contre 58,33%.

Pour les patients qui ont présenté une GVH, on a noté que :

- 0-3 mois : Cinq patients ont présentés une GVH aigüe soit 41,67% des cas.
- 03- 6mois : Deux patients ont présentés une GVH chronique soit 16,67% des cas.
- (Figure 10)

L'évolution était favorable sous traitement par une corticothérapie à dose de 2mg/kg pour patients.

Pour un patient, l'évolution a été marquée par la disparition de la GVH malgré le rejet du greffon. Pour l'autre patient, un décès a été noté dans un tableau de microangiopathie thrombotique associée à la GVHA.

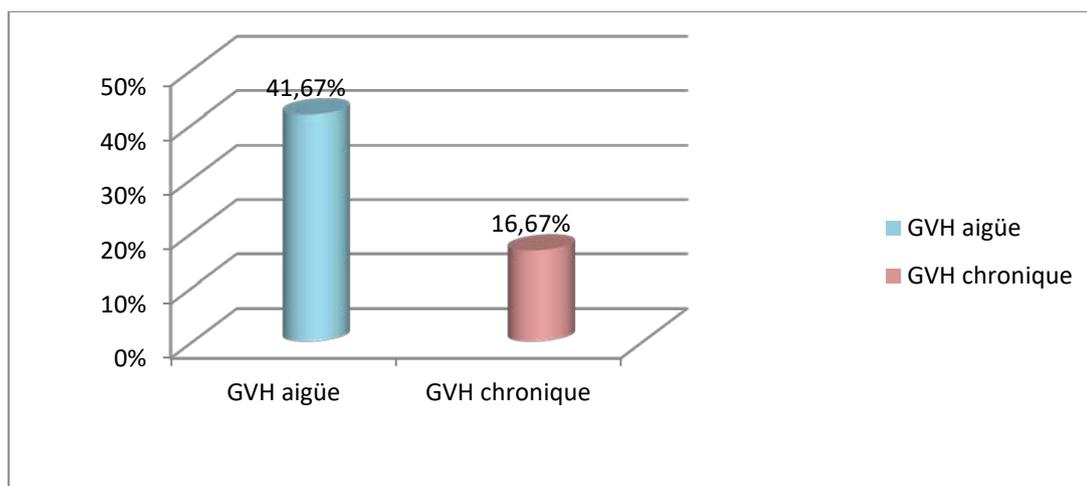


Figure 10 : Répartition des patients présentant une GVH selon le caractère aigu ou chronique

4. Toxicité orale et muqueuse:

La mucite est une inflammation de la muqueuse qui recouvre l'intérieur des viscères et des cavités, en particulier la bouche. C'est une complication fréquente des traitements chimiothérapeutiques et radiothérapeutiques.

4.1. Autogreffe :

Sept patients autogreffés ont présenté une mucite digestive après la greffe de CSH.

Il s'agissait de six myélomes multiples, et d'une maladie de Hodgkin.

- 6 avaient reçus un conditionnement par du Melphalan haute dose.
- 1 avait reçu un conditionnement par le protocole BEAM.

Chez 3 patients, cette mucite était de grade II (code de toxicité de l'OMS).

Et chez 4 patients, cette mucite était classée grade I.

4.2. Allogreffe :

Trois patients allogreffés ont présenté une mucite digestive après la greffe de CSH.

Il s'agissait d'une LMC, d'une LAM et d'une aplasie médullaire.

Cette mucite était classée grade II chez tous les patients selon la classification de toxicité de l'OMS.

- Dans l'allogreffe comme dans l'autogreffe, l'évolution était favorable pour la majorité de nos patients après une mise au repos du tube digestif et introduction d'une alimentation parentérale 35 à 45 Cal/kg/24h, avec bain de bouche (caphosol® ou fungizone®).

5. Toxicité vésicale :

La cystite hémorragique constitue une complication majeure de l'allogreffe.

Le BKV est impliqué dans 50 à 100% des cystites. Le traitement le plus efficace était réalisé par la cidofovir.

On a observé 3 cas de cystite hémorragique dans notre série des patients allogreffés, qui ont régressé après mesures symptomatiques (bonne hydratation du malade). Le cidofovir n'était pas disponible dans notre pays.

VI. INFECTIONS ET EPISODES FEBRILES :

Dans notre étude ont été colligés les épisodes fébriles survenus pour les 36 patients greffés pendant la durée de leur hospitalisation.

Un épisode fébrile était défini par l'apparition d'une température supérieure à 38,5°C persistante pendant plus de 02 heures (à l'exclusion des éventuelles fièvres liées à des problèmes transfusionnels).

Quand un épisode fébrile apparaissait, il était considéré comme étant d'origine microbiologique jusqu'à preuve du contraire et traité comme tel selon le protocole adopté dans le service (cf Malades et Méthodes).

1. Nombre d'épisodes fébriles :

Trente-quatre patients ont présentés des épisodes fébriles soit 94,44% des cas
Contre seulement 2 patients qui n'ont pas été fébriles soit 5,56% des cas.

2. Durée de la fièvre :

Presque tous nos malades ont été fébriles durant leur hospitalisation :

- Le nombre moyen de jours de fièvre était de 6,64 jours (extrêmes : 4 - 15).

3. Types d'infections :

Les épisodes fébriles ont été classés en :

- Septicémie
- Foyer cliniquement et/ ou microbiologiquement documenté
- Fièvre d'origine indéterminée (FOI)

Sur l'ensemble des 34 épisodes fébriles survenus au cours des hospitalisations des patients greffés, nous avons observé : (Figure 11)

- 1 septicémie soit 2,95%
- 14 foyers documentés soit 41,2%
- 19 FOI soit 55,9%

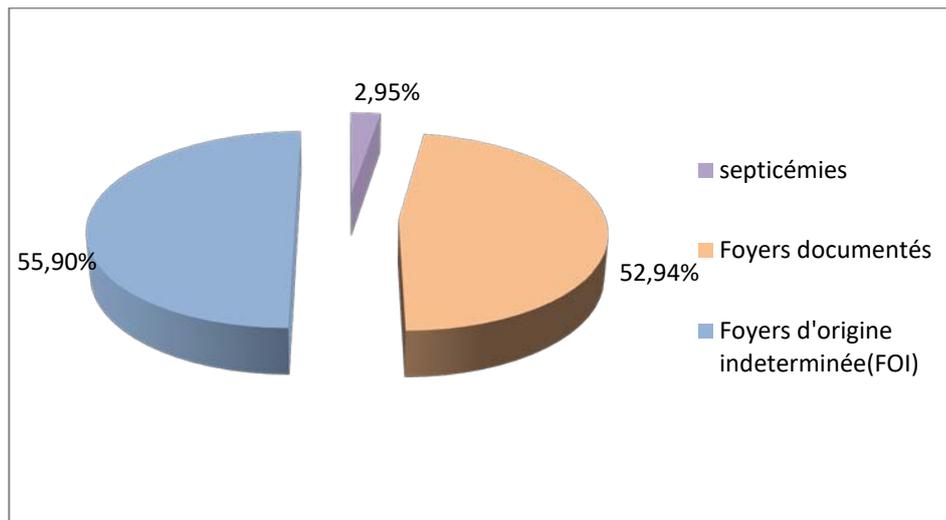


Figure 11: Répartition des épisodes fébriles selon les différentes classes

4. Documentation microbiologique :

4.1. Septicémies :

- Un seul épisode de septicémie a été observé durant notre étude concernant l'allogreffe de moelle osseuse (aplasie médullaire).
- Il ne représente que 2,95% des épisodes fébriles.
- On n'a pas pu étiqueter l'épisode et trouver le germe responsable.
- L'évolution était rapide vers un état de choc septique grave à J08 de la greffe non contrôlé par le traitement administré fait d'imipénème, amikacine et voriconazole entraînant le décès du patient.

4.2. Foyers :

Nous avons observé 14 foyers parmi 34 épisodes fébriles.

Ils représentent 41,2% des cas.

Il s'agissait : (Tableau IX)

Tableau IX : Répartition des foyers infectieux selon leur localisation

Types d'infections	Pourcentage	Autogreffe	Allogreffe
Foyers pulmonaires	28,57%	2 cas	2 cas
Foyers digestifs	21,43%	2 cas	1 cas
Foyers urinaires	21,43%	0 cas	3 cas
Foyers ORL	14,29%	0 cas	2 cas
Foyer oro-buccal	7,14%	0 cas	1 cas

Dans notre série, les complications infectieuses étaient plus fréquentes dans l'allogreffe.

(Figure: 12)

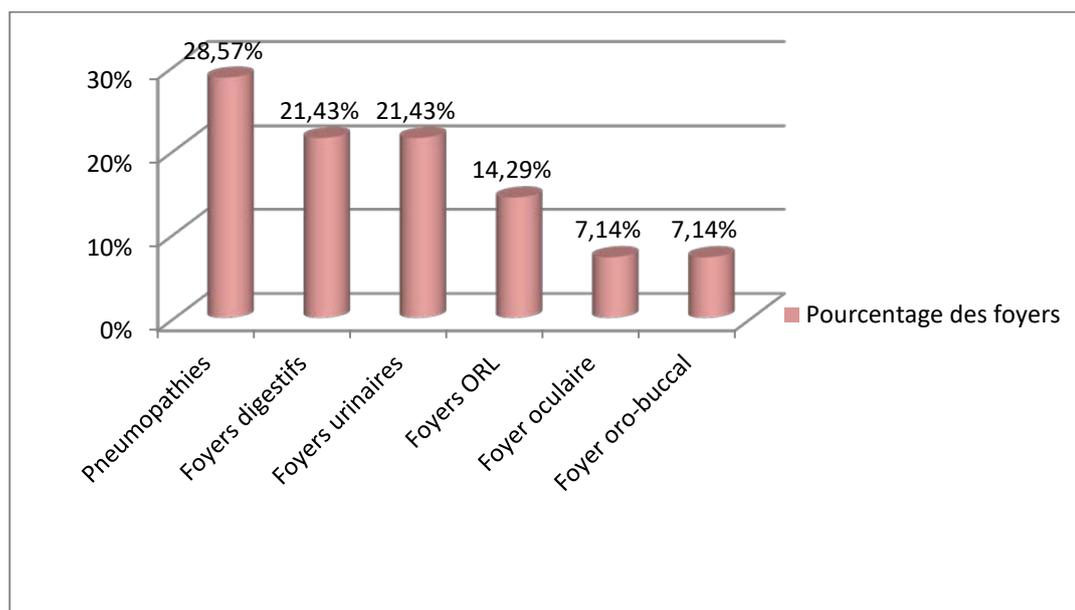


Figure 12: Répartition des foyers infectieux selon leur localisation

- 10 d'entre eux ont été microbiologiquement documentés (soit 58,82%)
- Les résultats en fonction des différents germes isolés étaient les suivants : (Tableau X)

Tableau X: Répartition des germes isolés selon les foyers infectieux

Foyers infectieux	Germes localisés	Nombre de cas	Traitement reçu
Pneumopathies	Staphylocoque	2	Levofloxacine
	Bacille de Koch (BK)	1	Traitement antibacillaire
	Cytomégalovirus (CMV)	1	Cymévène
F.Digestifs	klebsielle	1	Céphalosporines
F.Urinaires	E.Coli	1	Céphalosporines
	Candida albicans	2	Fluconazole
F.ORL	Pneumocoque	1	Céphalosporines
F.Oro-buccal	Herpes virus simplex (HSV)	1	Aciclovir
Total		10	

4.3. Résultats microbiologiques globaux :

Sur les 34 épisodes fébriles, 10 seulement ont été microbiologiquement documentés (29,41%).

Il s'agissait de :

* 5 fois de bactéries (50%)

*3 fois de virus (30%)

*2 fois de champignons (20%)

Les résultats en fonction des germes isolés étaient les suivants : (Tableau XI)

Tableau XI : Répartition des germes selon leur classe

Classe de germes	Types de germes	Nombre de cas
Bactéries	Pneumocoque	1
	Staphylocoque	1
	klebsielle	1
	E.Coli	1
	Bacille de koch(BK)	1
Virus	Cytomégalovirus (CMV)	2
	herpes virus simplex (HSV)	1
Champignons	Candida albicans	2
Total		10

5. Résultats :

Tous ces épisodes fébriles ont été traités par antibiothérapie adaptée ou empirique en fonction du foyer et du germe localisé.

On a noté deux décès dans notre série d'origine infectieuse dans un tableau de choc septique.



Figure 13: Radio thorax face d'un patient ayant présenté une pneumopathie

- Opacité des 2/3 inférieure de l'hémi-thorax droit d'allure alvéolaire, Opacité basale gauche dense, hétérogène à limite irrégulière avec ascension de la coupole diaphragmatique.



Figure 14: TDM pulmonaire d'un patient ayant présenté une pneumopathie sévère

- Foyers de DDB rétractiles d'allure séquellaire avec foyers de condensation alvéolaires et micronodules bronchiolaires basaux gauche d'origine infectieuse non spécifique.

VII. Transfusions :

1. Transfusions de globules rouges :

Les transfusions de globules rouges se sont effectuées sous forme de concentrés globulaires déleucocytés (CGD) et irradiés pour tous les malades.

1.1. Transfusions moyennes de globules rouges :

a. Autogreffe :

Trois patients ont nécessité une transfusion de globules rouges soit 12,5% des cas.
(Figure 15)

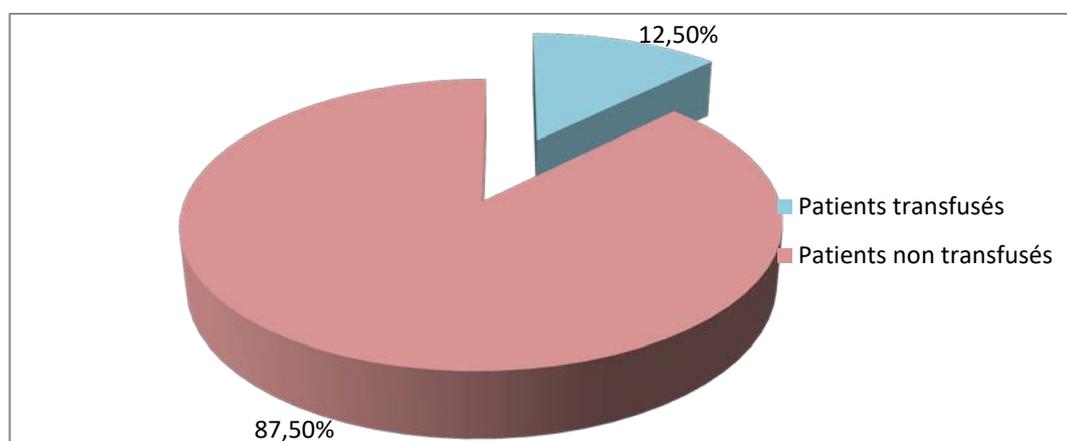


Figure 15: Répartition des patients selon le besoin de transfusion sanguine

Ils ont reçu en moyenne 1,4 unités de CGD (extrêmes : 1-2, écart-type : 0,5 ; médiane : 1).

Sur trois patients, un patient a nécessité une transfusion par 1 CGD et deux patients ont été transfusés par 2 CGD.

b. Allogreffe :

Chaque greffé a reçu en moyenne de 7,17 unités de CGD.

(Extrêmes: 5-10;écart-type : 1,27 ; médiane: 7,5)(Figure 16)

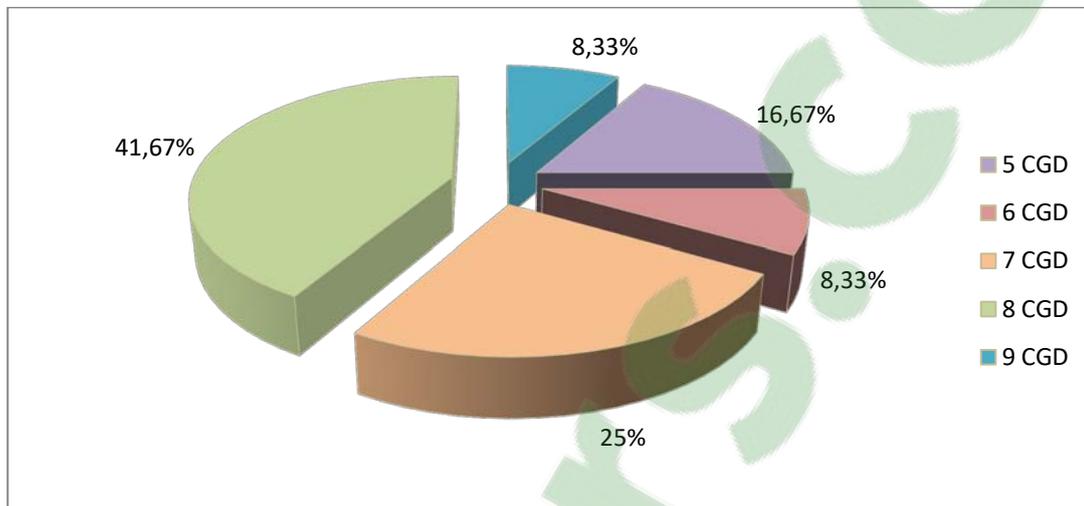


Figure 16: Répartition des patients selon le nombre de CGD reçu

50% de nos patients ont été transfusés par plus de 7,17 unités de CGD et 50% de nos patients ont été transfusés par moins de 7,17 unités de CGD durant leur période d'hospitalisation.

1.2. Transfusions moyennes de globules rouges en fonction de la pathologie :

a. Autogreffe :

Parmi nos trois malades ayant nécessité une transfusion en globules rouges, 1 patient porteur de MM, un patient était porteur de LNH et l'autre patient était porteur de MDH.

- Pour les MM (n : 1) :

Taux moyen : 1 unité de CGD (médiane : 1,5)

- Pour la MDH (n : 1) :

Taux : 2 unités de CGD

- Pour le LMNH (n : 1) :

Taux : 2 unités de CGD

(Figure 17)

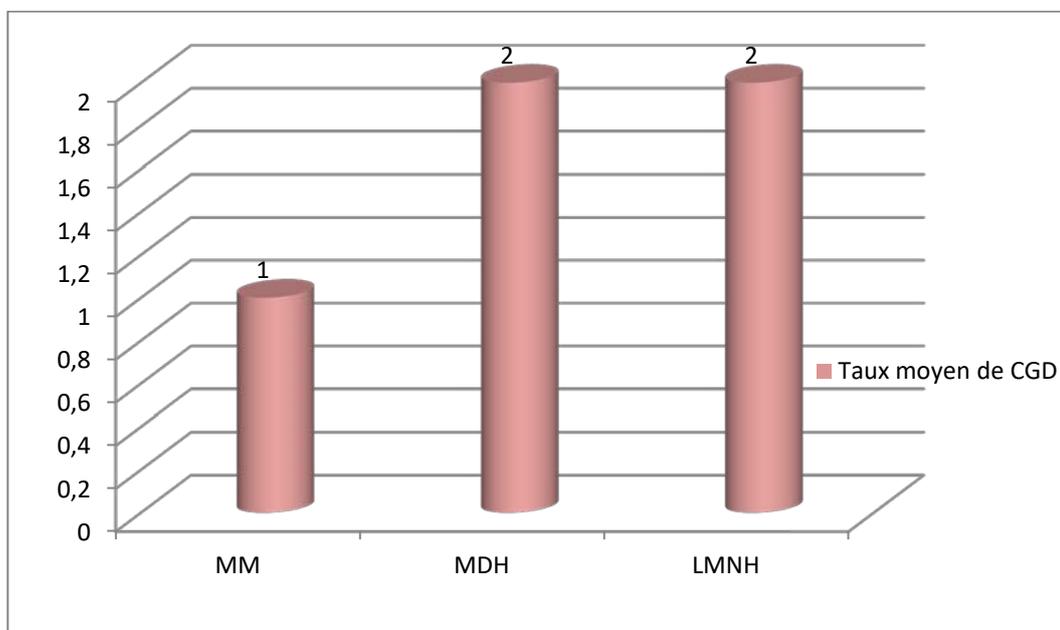


Figure 17: Répartition du taux moyen de CGD selon la pathologie

b. Allogreffe :

Tous nos patients ont nécessité une transfusion en globules rouges sauf les patients porteurs de SCID.

- Pour les aplasies médullaires (n : 5) :

Taux moyen : 8,2 unités (médiane : 8)

- Pour les hémoglobinopathies type bêta-thalassémie (n : 2) :

Taux moyen ; 6,5 unités (médiane : 7)

- Pour les hémopathies malignes (n : 3) :

Taux moyen : 7,3 unités (médiane : 7)

(Figure 18)

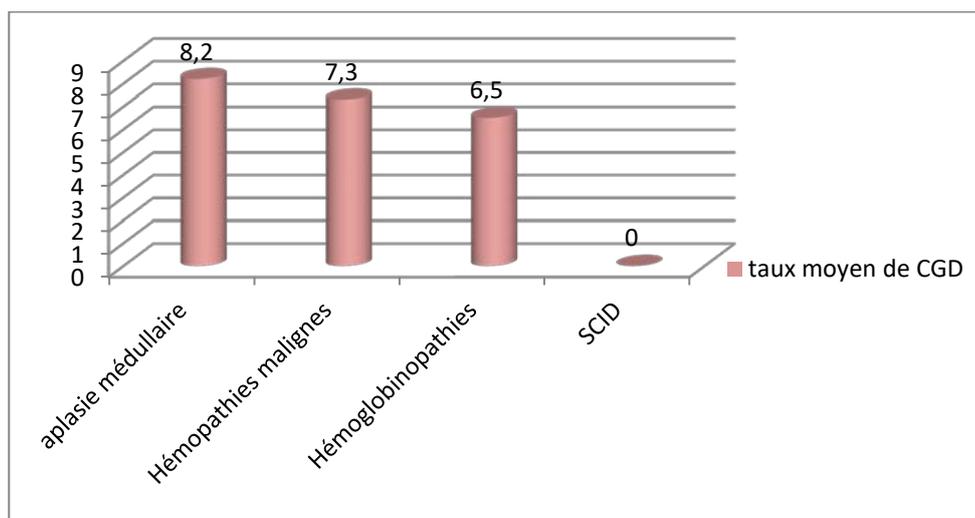


Figure 18 : Répartition du taux moyen de CGD reçu selon la pathologie

Le taux de transfusion le plus faible a été retrouvé dans les hémoglobinopathies.

Les transfusions en globules rouges ont été plus importantes dans les aplasies médullaires et dans les hémopathies malignes.

2. Transfusions de plaquettes :

2.1. Transfusions plaquettaires moyennes :

Les transfusions de plaquettes se sont effectuées sous forme d'unités plaquettaires standards ou d'unités de plaquettes de cytophérèse. Tous ces produits sont irradiés et déleucocytés.

a. Autogreffe :

Chaque greffé a reçu en moyenne 11,41 unités.

(Extrêmes: 6-24 ; écart-type : 5,39 ; médiane : 10)

18 malades ont reçus des plaquettes standards filtrées irradiées soit 75% :

- 10 ont reçus moins de 11,41 unités soit 55,5%
- 8 ont reçus plus de 11,41 unités soit 45,5%.

(Figure: 19)

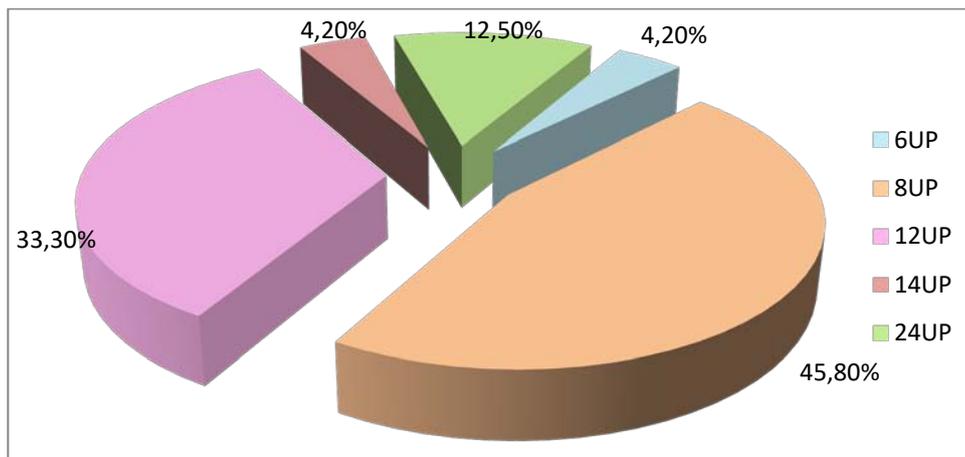


Figure 19 : Répartition des patients en fonction du nombre de CUP reçu

6 malades ont reçus des plaquettes de cytophérèse (1 pool) soit 25%.

b. Allogreffe :

Dans notre série, dix patients ont nécessité une transfusion par des unités de CUP ou unités de plaquettes de cytophérèse soit 83,33% des cas contre seulement deux patients qui n'ont pas été transfusé durant leur période d'hospitalisation soit 16,67% des cas.

- Sur les dix patients, sept ont reçus une transfusion par CUP soit 70%.

Chaque greffé a reçu en moyenne 67 unités de CUP.

(Extrêmes : 50-85; écart-type : 12,5 ; médiane : 65) (Figure 20)

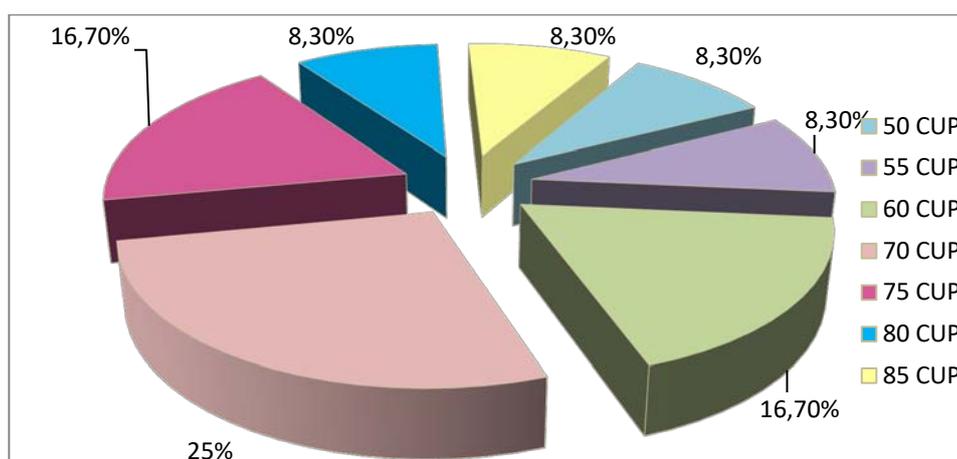


Figure 20: Répartition des patients selon le nombre de CUP reçu

- 7,5 de nos patients soit 62,5% ont été transfusés par moins de 21,5 unités de CUP.
 - Et 37,5% des cas ont été transfusés par plus de 21,5 unités de CUP.
- Trois patients ont reçus des plaquettes de cytophérèse soit 30% (à noter que nos patients ont nécessité une transfusion par plusieurs pools de cytophérèse).

2.2. Transfusions plaquettaires moyennes en fonction de la pathologie :

a. Autogreffe :

Le taux de transfusions plaquettaires moyennes selon la pathologie était réparti en :

- Pour les MM (n : 22) :

Taux moyen : 11 unités (médiane : 8)

- Pour la MDH (n : 1) :

Taux : 24 unités

- Pour le LMNH (n : 1) :

Taux : 24 unités

(Figure 21)

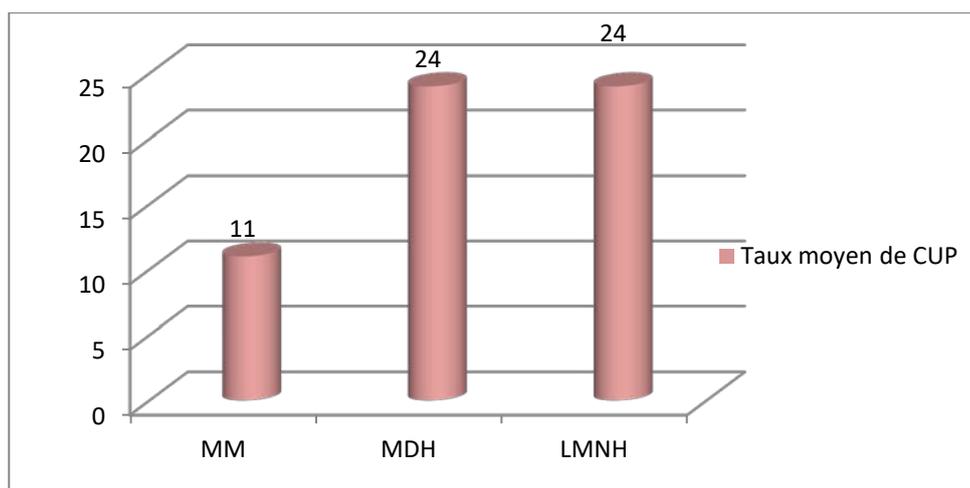


Figure 21: Répartition du taux moyen de CUP reçu selon la pathologie

b. Allogreffe :

Le taux de transfusions plaquettaires moyennes selon la pathologie était réparti en :

- Pour les aplasies médullaires (n : 5) :

Taux moyen : 81 unités (médiane : 80)

- Pour les hémoglobinopathies type bêta-thalassémie (n : 2) :

Taux moyen ; 52,5 unités (médiane : 52,5)

- Pour les hémopathies malignes (n : 3) :

Taux moyen : 62,5 unités (médiane : 62,5)

(Figure 22)

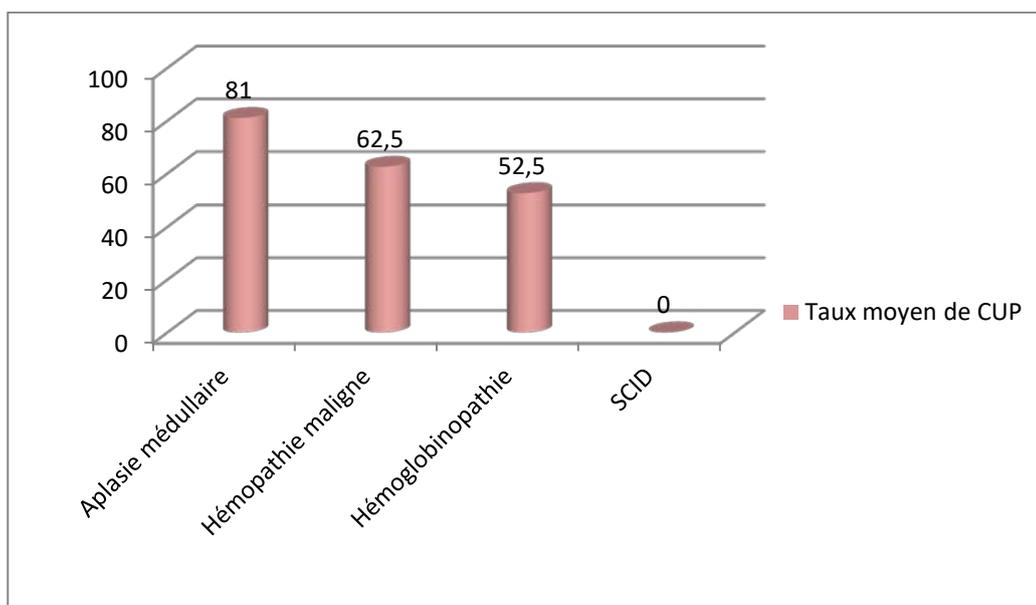


Figure 22: Répartition du taux moyen de CUP reçu selon la pathologie

VIII. DUREE D'HOSPITALISATION :

La durée d'hospitalisation a été comptabilisée pour chaque greffe, à partir du premier jour de greffe jusqu'au jour de la première sortie.

1. Durée moyenne d'hospitalisation :

1.1. Autogreffe :

La durée moyenne d'hospitalisation a été de 16,62 jours (extrêmes : 10-37 ; écart-type : 5,95 ; médiane : 15)

(Figure 23)

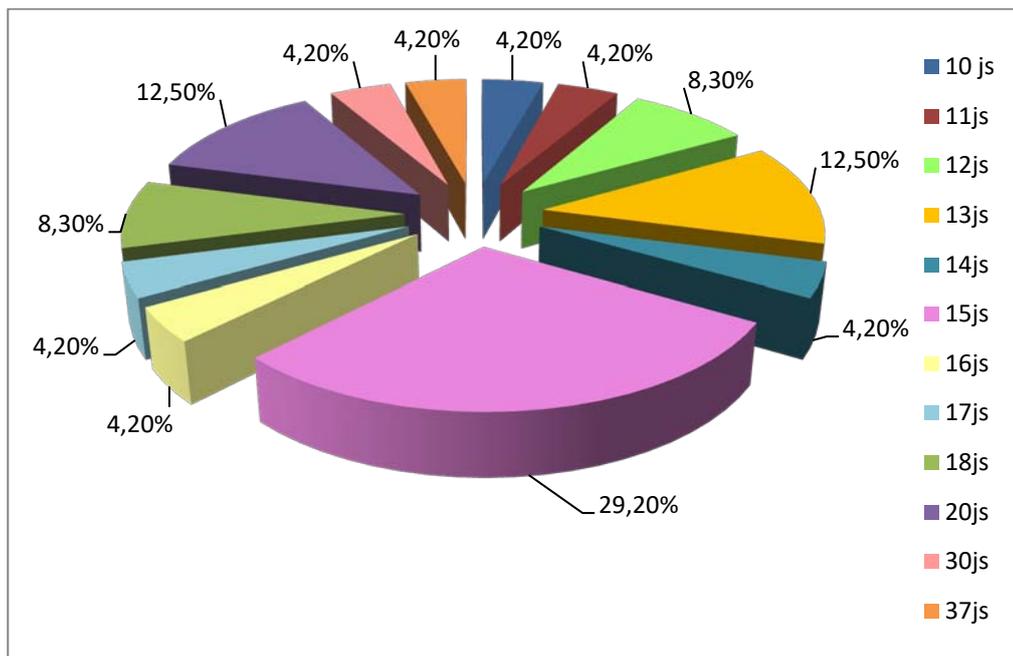


Figure 23: Répartition des patients selon la durée d'hospitalisation

La majorité de nos patients soit 66,67% ont été hospitalisés moins de 16,62 jours contre seulement 33,33% hospitalisés pendant plus de 16,62js.

1.2. Allogreffe :

La durée moyenne d'hospitalisation a été de 50 jours (extrêmes : 45-60jours ; écart-type : 6,32 ; médiane : 47,5) (Figure 24)

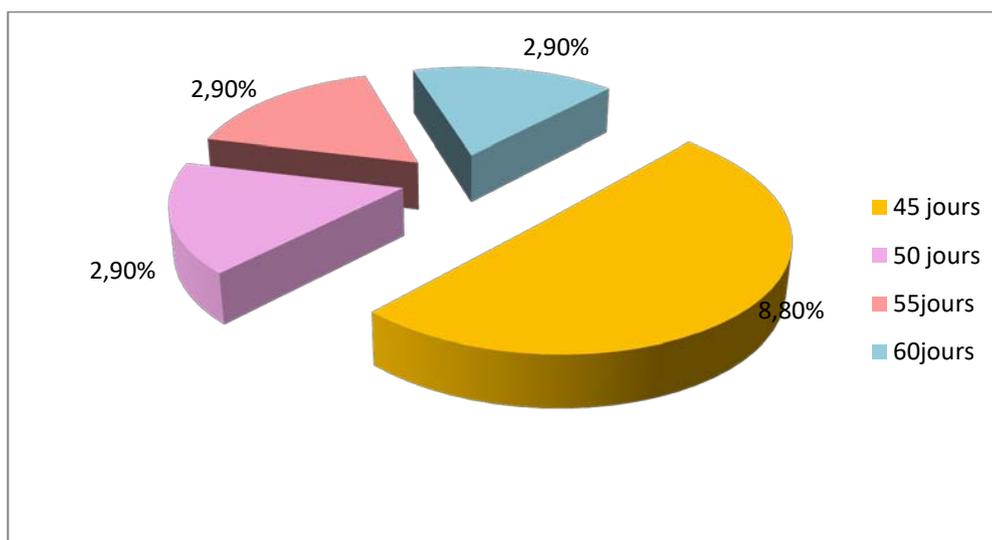


Figure 24: Répartition des patients selon la durée d'hospitalisation

33,33% de nos patients ont été hospitalisés pendant plus de 50 jours dans notre service.

Et 66,67% de nos patients ont été hospitalisés pendant moins de 50 jours.

2. Durée moyenne d'hospitalisation en fonction de la pathologie :

2.1. Autogreffe :

La durée moyenne d'hospitalisation pour chaque pathologie était : (on a exclu les patients décédés)

- Pour les MM (n=21) :

Durée moyenne : 15,7 jours (médiane : 15)

- Pour les LNH (n=1) :

Durée : 30 jours

- Pour les MDH (n=1) :

Durée : 24 jours(Figure 25)

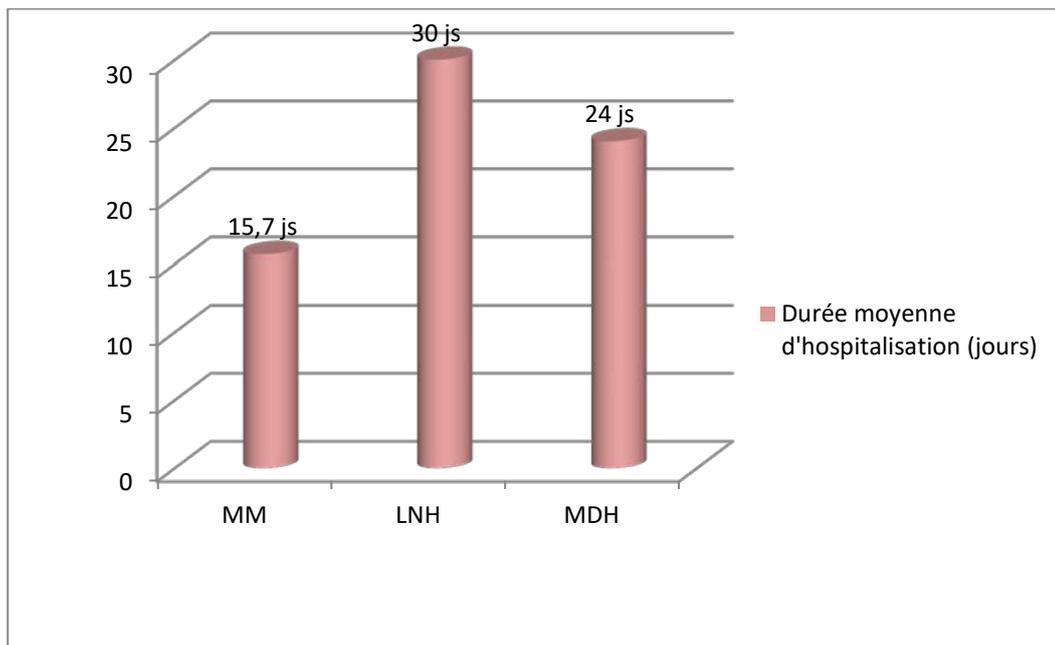


Figure 25: Répartition de la durée moyenne d'hospitalisation en fonction de la pathologie

2.2. Allogreffe :

La durée moyenne d'hospitalisation pour chaque pathologie était : (on a exclu les patients décédés)

- Pour les aplasies médullaires (n=2) :

Durée moyenne: 47,5 jours (médiane : 47,5)

- Pour les hémoglobinopathies type bêta-thalassémie (n=2) :

Durée moyenne: 52,5 jours (médiane : 52,5)

- Pour les SCID (n=2) :

Durée moyenne: 50 jours (médiane : 50)(Figure 26)

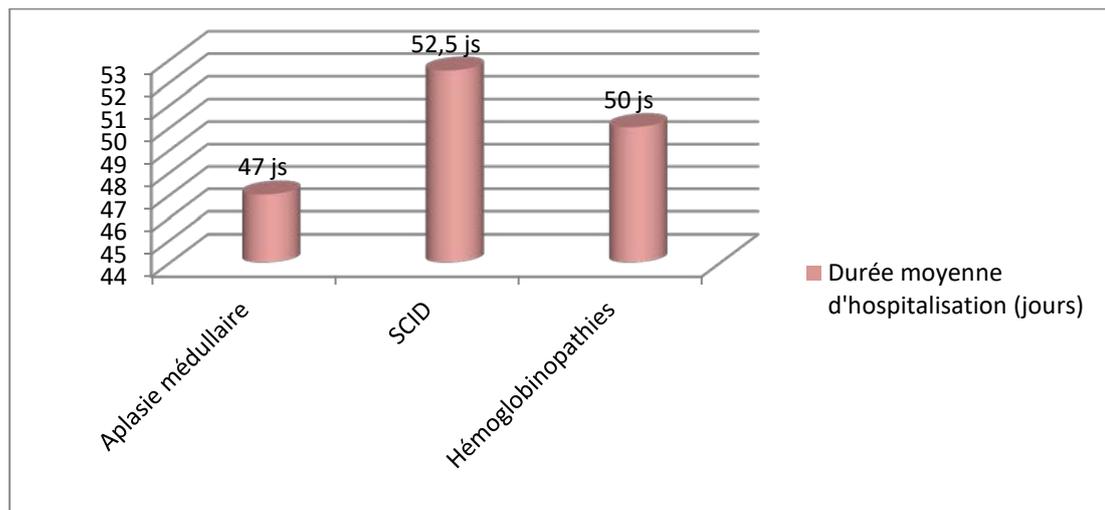


Figure 26 : Répartition de la durée moyenne d'hospitalisation en fonction de la pathologie

Deux patients ont été ré-hospitalisés après leurs sorties pour infection à CMV :

- 1 aplasie médullaire
- 1 thalassémie

L'évolution a été favorable pour les deux patients après traitement antiviral.

Leur hospitalisation moyenne était de 45 jours.

IX. RESULTATS HEMATOLOGIQUES :

1. Résultats immédiats :

1.1. Autogreffe :

Dans notre étude de 23 malades sur 24 (1 patient a été perdu de vue), l'autogreffe a permis d'obtenir :

- ❖ Une rémission complète chez 21 malades, soit un taux de 91,3 % de RC.
- ❖ Une rechute chez 2 malades, soit un taux de 8,7 % de rechute dont un décès (à 9 mois post-greffe) et un en 2^{ème} RC après chimiothérapie.

❖ Il n'y a aucun décès toxique lié à l'autogreffe.

1.2. Allogreffe :

Dans notre étude concernant 12 malades, l'allogreffe a permis d'obtenir :

- ❖ Une rémission complète chez 5 malades, soit un taux de 41,67 % de RC.
- ❖ Un décès chez 5 malades, soit un taux de 41,67 % de décès.
- ❖ Un rejet chez 2 malades, soit un taux 16,66% de rejet.

(Figure 27)

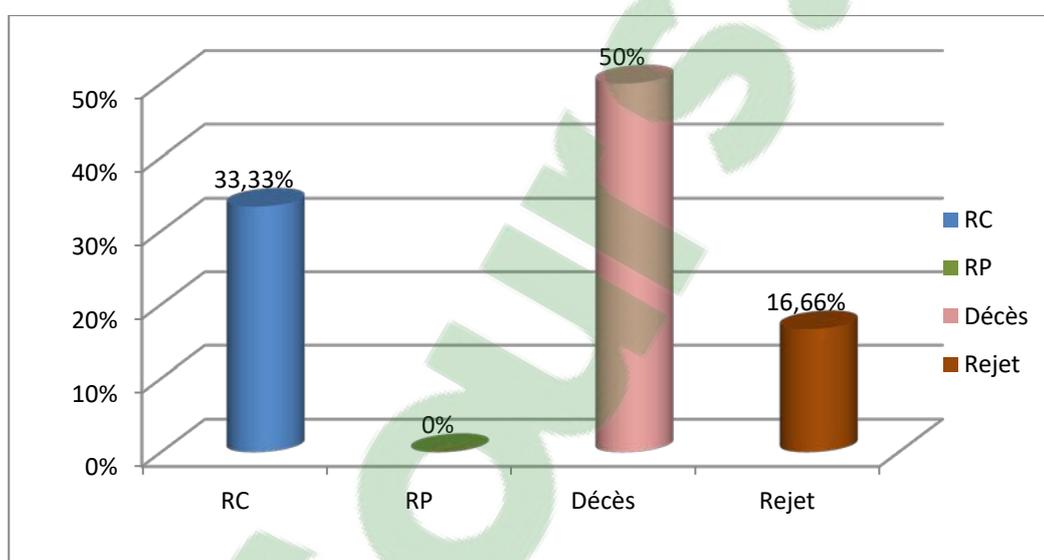


Figure 27: Répartition des patients selon le statut pos-greffe.

2. Disease Free Survival (DFS) et survie globale :

2.1. Autogreffe :

Le délai médian de suivi a été de 22 mois (extrêmes : 8-32, moyenne : 20,5).

Le pourcentage des survivants est de 95,83% (23 malades sur 24).

Le taux de rémission complète persistante (CCR) est de 95,7% (21 en 1^{ère} RC, 1 en 2^{ème} RC).

La médiane de survie était de 21 mois (extrêmes : 12-35, moyenne : 23,5).

La médiane de DFS (survie en rémission complète) était de 24 mois :

- 21 sont toujours en RC (1 MDH, 1 LNH, 19 MM)
- 2 ont rechuté avec 1 décès et une deuxième RC
- 1 perdu de vue

2.2. Allogreffe :

Le délai médian de suivi a été de 15 mois (extrêmes : 12-24 ; moyenne : 14.5).

Le pourcentage des survivants est de 58,33 % (7 malades sur 12).

La médiane de survie était de 33 mois (extrêmes : 20-36 ; moyenne : 30).

La médiane de DFS (survie en rémission complète) était de 33 mois :

- 5 sont en RC
- 2 sont en rejet du greffon mais en rémission partielle
- 5 sont décédés

3. Résultats en fonction de la pathologie :

3.1. Autogreffe :

- Les 22 malades porteurs de MM ont été mis en rémission complète par l'autogreffe :

- 19 malades sont restés en RC,
- 2 ont rechuté avec 1 décès et 1 deuxième RC après chimiothérapie,
- 1 a été perdu de vue.

Soit un taux de CCR de 90,9% (20 sur 22)

- Les deux malades porteurs du LNH et de MDH ont été mis en RC par l'autogreffe et sont restés en RC.

3.2. Allogreffe :

- Parmi les 5 malades porteurs d'aplasie médullaire :

- 3 ont été mises en RC après l'allogreffe soit 60% des cas,
 - 2 sont décédés dont un patient était décédé dans un tableau de choc septique grave et l'autre patient était décédé de maladie veino-occlusive et détresse neurologique en relation probablement avec la toxicité de la ciclosporine.
- Les 2 malades porteurs de bêta-thalassémie ont été mis en RC après l'allogreffe.
- Il a été noté un rejet des deux patients dans un délai moyen de 100 jours.

Pour l'évolution, le suivi de ces deux patients a été marqué par une diminution du besoin transfusionnel, on a trouvé que leur thalassémie est devenue intermédiaire et étaient considérés comme guéris en RP.

- Les 2 malades porteurs de SCID ont été mis en RC après l'allogreffe et sont restés en RC.
- Les 3 malades porteurs d'hémopathie maligne (LAM, LAL, LMC) sont décédés.

L'un des 3 patients était décédé dans le cadre d'une prise du greffon à J50 de la greffe, le 2^{ème} patient dans le cadre d'une GvH et d'une infection à CMV à J71 de la greffe et le dernier patient était décédé dans le cadre d'une complication neurologique avec MAT compliquée d'un syndrome hémorragique avec une prise du greffon à J80 de l'allogreffe.

L'évolution diffère selon la pathologie pour laquelle l'allogreffe a été faite. Dans notre série, on remarque que chez nos patients porteurs d'aplasie médullaires, l'allogreffe a été réussite et que les patients porteurs d'hémopathies malignes, c'était le décès de nos patients.

4. Résultats en fonction de l'état hématologique avant la greffe de CSH :

4.1. Autogreffe :

- Sur les 18 patients dont la RC a été consolidée par l'autogreffe :
 - 16 sont restés en RC
 - 2 ont rechuté et 1 d'entre eux est décédé.

Soit un taux de CCR de 88,88%.

- Sur les 6 patients greffés en RIC ont été mis en rémission complète et sont tous restés en RC après l'autogreffe.

Soit un taux de CCR de 100%.

4.2. Allogreffe :

- Sur les 12 malades allogreffés :

- 5 ont été en RC, soit 41,67%
- 2 ont rechuté, soit 16,67%
- 5 sont décédés, soit 41,67 %

Notre série a noté un décès chez 5 de nos patients soit 41,67 % des cas.

Pour les deux patients qui ont été en rejet du greffon, ils étaient connus porteurs de béta-thalassémie majeure, on a noté une rémission partielle de leur pathologie (béta-thalassémie intermédiaire) n'ayant pas nécessité des transfusions sanguines répétées et des traitements par chélateurs de fer.

L'analyse des décès sera détaillée dans les chapitres suivants.

5. Analyse des facteurs pronostiques pour la survie globale et la survie sans progression :

5.1. Autogreffe :

Ce tableau montre les différents facteurs pronostiques évalués dans notre étude :

Tableau XII: Facteurs pronostiques et leur impact sur la SG et la SSP

Variable	Survie globale	Survie sans progression
	p- value	p- value
Age (<45 / >45)	0,21	0,03
Sexe (H/F)	0,03	0,22
Nombre de lignes thérapeutiques reçu (1 / > 2)	0,02	0,13
Conditionnement au Melphalan haute dose	0,006	0,02
Statut pré-greffe (RC/RP/ECHEC)	0,009	0,06

5.2. Allogreffe :

Ce tableau montre les différents facteurs pronostiques évalués dans notre étude :

Tableau XIII: Facteurs pronostiques et leur impact sur la SG et la SSP

Variable	Survie globale	Survie sans progression
	p-value	p-value
Age (<25 ans ou > 25 ans)	0,01	0,001
Sexe (H/F)	0,001	0,13
Diagnostic	0,001	0,006
Type de Conditionnement	0,02	0,01
Réponse pré-greffe à la chimiothérapie(LAM/LMC/LAL)	0,001	0,03

6. Analyse des rechutes :

6.1. Autogreffe :

- Sur les 24 patients mis en RC par l'autogreffe, seulement 2 malades ont rechuté, soit un taux de rechute de 8,33%.
- La rechute est apparue dans un délai médian après l'autogreffe (J0) de 225 jours (extrêmes : 180-270, moyenne : 225).
- Les deux rechutes sont survenues chez les patients porteurs de MM et ont été inclus dans le protocole CDT.

On rappelle que l'évolution de ces 2 patients était marquée par une RC pour l'un des patients et un décès pour l'autre après 09 mois post-greffe.

Aucun décès toxique lié à la procédure n'a été noté dans notre série.

6.2. Allogreffe :

Sur les 12 patients allogreffés, 2 ont présenté un rejet.

- Le rejet est apparu dans un délai médian après l'allogreffe de 100 jours et ils étaient connus porteurs d'hémoglobinopathies type bêta-thalassémie qui est devenue intermédiaire, et ont été considérés comme guéris en RP.

7. Analyse des décès :

7.1. Autogreffe :

- Un seul décès lié à la progression de la maladie hématologique (MM) a été noté dans notre série, soit un taux de 4,16%.
- Le décès est survenu dans un délai médian après l'autogreffe de 285 jours.
- Le décès est survenu dans un délai médian après la première rechute de 15 jours.
- L'état hématologique pré-greffe du patient était en RC (figure 28).

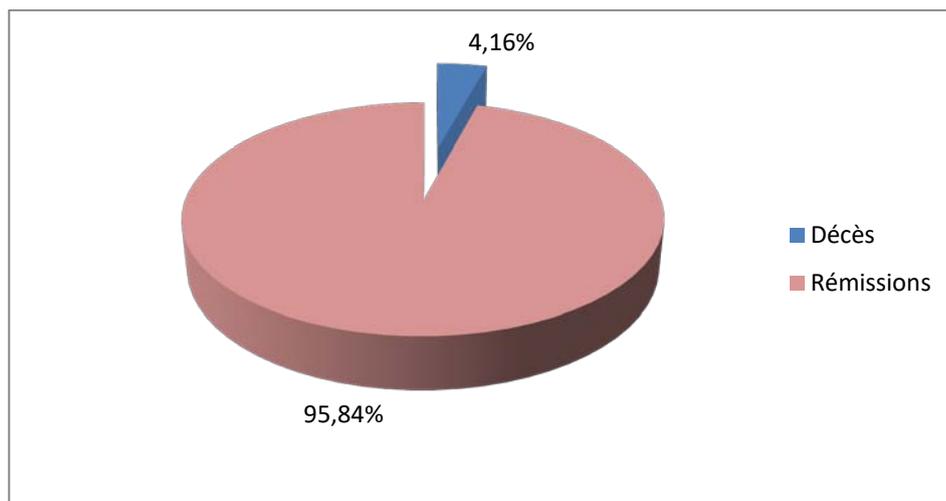


Figure 28: Répartition des patients selon le taux de décès et de réussite

7.2. Allogreffe :

- 5 décès d'origine toxique ont été notés dans notre série de malades, soit un taux de 41,67%.
- L'âge moyen de ces patients était de 15,75 ans (extrêmes : 7-34).
- Il y avait 4 garçons et 1 fille.

- Le décès est survenu dans un délai médian après l'autogreffe de 60,5 jours (extrêmes : 8-80, moyenne : 52,25)
- Les différentes pathologies hématologiques étaient :
 - 2 Aplasies médullaires
 - 1 LAM
 - 1 LAL
 - 1 LMC
- Pour les aplasies médullaires, la cause de décès était :
 - Le 1^{er} patient âgé de 14 ans était décédé dans un tableau de choc septique grave d'étiologie non déterminée qui n'a pas répondu au traitement administré à base d'antibiothérapie probabiliste à large spectre.
 - Le 2^{ème} patient âgé de 03 ans était décédé dans un tableau de détresse neurologique en relation probablement avec la toxicité de la ciclosporine.
- Pour les hémopathies malignes, la cause du décès était :
 - Le patient porteur de LMC était décédé par des complications neurologiques à type de convulsions tonico-cloniques généralisées avec un état de mal convulsif et troubles de conscience.
 - Le patient porteur de LAM était décédé par l'apparition d'une GvH et l'apparition à J45 d'une infection à CMV en plus de complications neurologiques.
 - Le patient porteur de LAL était décédé dans le cadre d'une microangiopathie thrombotique compliquée d'un syndrome hémorragique.

8. Reprise de l'activité :

Tous nos patients ayant bénéficié d'une greffe de CSH dont l'évolution était favorable, ont pu reprendre une activité quotidienne normale.

Les enfants ont pu reprendre leurs scolarisations et les adultes ont pu reprendre leurs travaux de façon normale.

L'une des patientes connue porteuse d'une aplasie médullaire ayant bénéficié d'une allogreffe qui était réussite, est tombée spontanément enceinte après 1 an ½ de la greffe, sa grossesse s'est déroulée sans incidents et a accouchée d'un nouveau-né de sexe féminin en bonne santé au sein de notre service de gynécologie-obstétrique du CHU Med VI de Marrakech et actuellement elle travaille comme secrétaire en service de Médecine Nucléaire du Centre d'Hématologie et d'Oncologie de Marrakech.



DISCUSSION



I. Historique :

1. L'histoire des cellules souches

Les rares humains survivants immédiats à l'irradiation massive des bombardements atomiques de 1945 à Hiroshima et Nagasaki ont évolué des signes d'anémie, des infections graves par défaut immunitaire et des hémorragies incoercibles, liées à la disparition des plaquettes sanguines indispensables à la coagulation. L'étude de leur moelle osseuse, siège de la production habituelle des globules sanguins et des plaquettes, la révéla désertée de toute cellule hématopoïétique: c'était l'aplasie de la moelle dont sont morts secondairement tous les humains massivement irradiés. [4]

C'est à partir de ce sinistre constat et de la comparaison avec la biologie d'individus normaux que des travaux scientifiques plus poussés ont pu mener chez des adultes humains :

- au concept de **cellules « souches »**, capables de se diviser en cas de diminution du taux des cellules circulantes et de donner des lignées de cellules filles. Par un message intercellulaire, chaque division de cellule souche permet de maintenir constant le capital global des cellules et celui des cellules souches. [4]
- au concept de **capacité de régénération cellulaire** de la peau et du foie en particulier. [4]
- au concept de **transfert par transfusion des cellules souches médullaires** [5]

Depuis quelques années, les chercheurs ont établi encore la présence de cellules souches dites adultes ou somatiques dans plusieurs autres tissus et organes du corps tels que l'intestin, le système nerveux central, le muscle... Cela suppose qu'il en existe dans tous les organes même dans ceux où on ne les a pas encore localisées tels que, le rein ou le poumon... [4, 6]

Tandis que la recherche sur les cellules souches embryonnaires est au coeur de l'actualité scientifique biomédicale du fait de leurs propriétés tout à fait exceptionnelles et en raison des

débats éthiques que les méthodes de leur récolte soulèvent. Elle implique une intervention sur l'embryon qui est nécessairement destructrice et dont la portée symbolique ne manque pas de soulever des interrogations éthiques. [7]

2. Chronologie et dates des importantes recherches.

Quelques dates importantes ont marqué l'avancée spectaculaire de la recherche sur les cellules souches humaines.

1950-1960 : le concept de cellules souches adultes (CSA) est avancé pour rendre compte du renouvellement du sang et de la peau. [5]

1961 : découverte des premières cellules souches sanguines. [5]

1964 : découverte de cellules souches dans les carcinomes embryonnaires. [5]

1968 : première greffe de moelle osseuse. [5]

1981 : isolement et culture des cellules souches embryonnaires (ES) de souris. [7]

1994 : isolement de cellules de la masse cellulaire interne (ICM) de blastocystes humains et leur maintien en culture. [8]

1995 : isolement des lignées de cellules souches embryonnaires de primate. Ces cellules souches embryonnaires sont diploïdes et ont un caryotype normal.

Elles sont pluripotentes et se différencient en types cellulaires dérivés de tous les trois feuilletts primordiaux. On constate que les cellules souches embryonnaires de primates ressemblent aux cellules souches de carcinomes embryonnaires humaines et permettent de penser qu'il pourrait être possible de produire et de maintenir en vie des cellules souches embryonnaires humaines *in vitro*. [9]

1998-2000 : Production de cellules souches embryonnaires humaines à partir de la masse cellulaire interne de blastocystes cédés par des couples inscrits en FIV. On a constaté que les cellules souches embryonnaires

prolifèrent *in vitro* sur des périodes prolongées tout en conservant un caryotype normal. Ces cellules se différencient spontanément en lignées cellulaires somatiques issues des trois feuillets primordiaux et forment des tératomes quand on les injecte dans des souris immuno-déficientes. [6 ,10]

2000 : production de cellules souches embryonnaires humaines et leur différenciation en neurones. [11]

2003 : production de cellules souches embryonnaires humaines à partir de dents de lait humaines tombées naturellement. [12]

2004 : cellules souches embryonnaires humaines ont été obtenues par transfert du noyau d'une cellule somatique d'une femme dans son ovule anucléé. [13]

2005 : Obtention de cellules souches embryonnaires humaines par transfert du noyau d'une cellule somatique de malade dans son ovule anucléé [13].

2006 : Obtention de cellules souches embryonnaires humaines à partir d'embryons humains considérés comme morts naturellement [13].

Les recherches menées actuellement portent sur les mécanismes de communication intercellulaire, sur les mécanismes de différenciation et de spécialisation cellulaire. On étudie également les conditions de récolte de ces cellules souches, leur mise en culture, leur prolifération, et leur administration locale ou systémique. Ces travaux visent la maîtrise du potentiel régénérateur de ces cellules pour que de nombreuses applications thérapeutiques majeures pourraient voir le jour et permettraient des réparations tissulaires et organiques potentiellement vitales. C'est le fondement de la médecine régénératrice. [5]

II. Les cellules souches hématopoïétiques :

1. Hématopoïèse :

L'hématopoïèse est la fonction par laquelle l'organisme produit et renouvelle les éléments figurés du sang, c'est-à-dire les hématies, les polynucléaires, les monocytes, les lymphocytes et les plaquettes. Toutes les cellules du sang dérivent d'un type cellulaire appelé cellule souche hématopoïétique (HSC). Chez l'Homme, l'hématopoïèse commence dans le sac vitellin de l'embryon au cours des premières semaines du développement [14](**figure 29**)

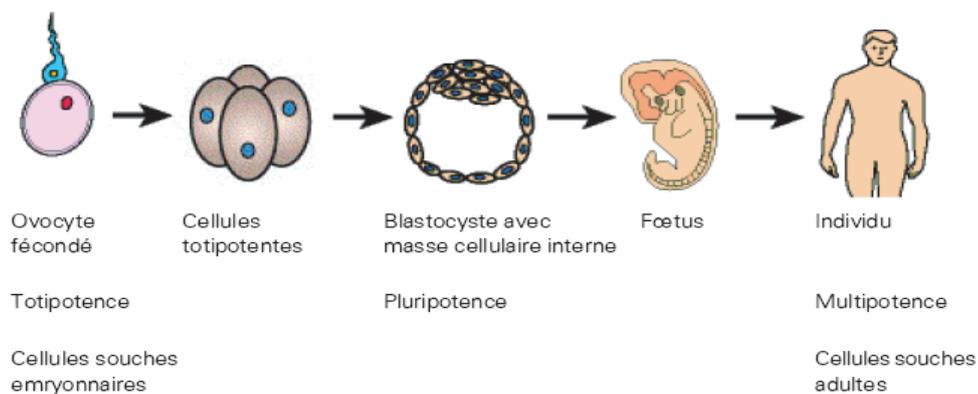


Figure29 : Les cellules souches [14]

Là, les cellules souches du sac vitellin se différencient en cellules érythroïdes primitives qui contiennent de l'hémoglobine embryonnaire. Au troisième mois de la grossesse, les HSC migrent du sac vitellin vers le foie foetal, puis vers la rate; ces deux organes ont des rôles majeurs dans l'hématopoïèse du troisième au septième mois de la gestation. Par la suite, la différenciation des HSC a lieu dans la moelle osseuse qui devient le site majeur de l'hématopoïèse [14]. Les HSC sont très peu nombreuses; elles ne représentent qu'un très faible pourcentage des cellules médullaires (de 0,01 à 0,05 %). L'étude des HSC est difficile, en raison de leur rareté, mais aussi parce qu'elles sont difficiles à cultiver in vitro. Il en résulte que l'on dispose de peu d'informations sur la façon dont leur prolifération et leur différenciation sont

régulées. En raison de leur capacité à s'auto renouveler, les HSC sont maintenues à des niveaux stables tout au long de la vie adulte. Cependant, lorsqu'il y a une demande accrue de cellules sanguines, les HSC montrent une énorme capacité de prolifération.

Sous l'influence de facteurs stimulants, une **cellule souche** va s'engager dans la différenciation d'une lignée cellulaire. Elle devient alors un **pro géniteur**. Après plusieurs divisions, les progéniteurs acquièrent les caractéristiques fonctionnelles d'une seule lignée. On aboutit alors aux **précurseurs**, cellules identifiables morphologiquement sur un prélèvement de moelle osseuse. Ces précurseurs perdent leur capacité de prolifération et arrivent à maturité. Cette maturation aboutit aux **cellules terminales** fonctionnelles qui passent dans le sang. L'hématopoïèse comporte donc 4 compartiments: les cellules souches multipotentes, les progéniteurs, les précurseurs et les cellules matures.

L'hématopoïèse débute par la génération de deux types de progéniteurs multipotentes, l'un à l'origine de la myélopoïèse et le second à l'origine de la lymphopoïèse.

Au cours de la maturation des cellules B dans la moelle osseuse, certains segments géniques sont brassés au hasard par un système génétique dynamique capable de créer plus de 1010 combinaisons. Ce processus est soigneusement régulé: la maturation d'une cellule B progénitrice progresse selon une séquence ordonnée de réarrangements (recombinaisons) des gènes des immunoglobulines (Ig). A la fin de ce processus, une cellule B mature immunocompétente possédera une seule séquence fonctionnelle de la région variable de la chaîne lourde, ainsi qu'une seule séquence fonctionnelle de la région variable de la chaîne légère, de telle façon que chaque cellule B soit antigéniquement engagée contre un épitope spécifique. Les changements, bien définis dans le programme développemental des cellules B humaines, incluent (**Figure 30**) l'expression de CD19, la régulation de l'expression de RAG-1 et TdT, l'expression cytoplasmique de la chaîne lourde μ , l'expression à la surface des chaînes lourdes μ avec V_{preB} et $\lambda 5$ pour former le pré-récepteur des cellules B et, finalement, l'expression à la surface des chaînes lourdes μ avec les chaînes légères κ et λ pour former le récepteur des cellules B [15].

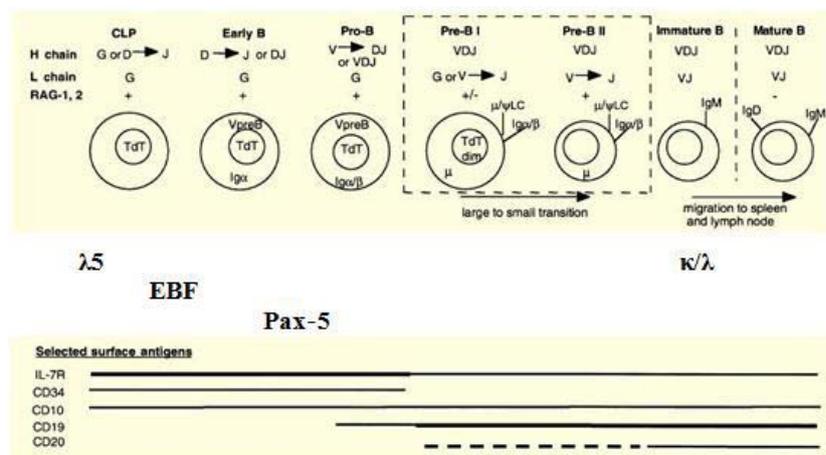


Figure 30: Modèle du développement des cellules B humaines [15]

La maturation d'une cellule B progénitrice progresse selon une séquence ordonnée de réarrangements (recombinaisons) des gènes des Ig. Le stade de réarrangement des Ig et l'expression de RAG-1, RAG-2, $\lambda 5$, EBF, Pax-5, TdT, pre-BCR et BCR sont montrés. L'expression des antigènes de surface est illustrée en dessous. Les lignes pointillées indiquent une faible expression, les lignes en gras indiquent une forte expression(7).

Plusieurs études ont tenté de différencier les HSC en cellules B. Tout d'abord, après Coculture de cellules CD34+ de sang de cordon ombilical sur une couche de cellules stromales murines MS-5 sans ajouter de cytokines, une équipe a montré une différenciation des cellules jusqu'au stade de cellules pro-B. Ces cellules exprimaient Pax-5, λ et la chaîne lourde μ . Un an plus tard, un autre groupe montrait la différenciation de ces cellules en cellules B plus matures pouvant sécréter des Ig en utilisant un système de Co-culture en 2 étapes:

- Co-culture avec une lignée de cellules stromales murines S17 puis transfert sur des fibroblastes exprimant le CD40 ligand en présence d'IL10 et d'IL-4 [16].

Récemment, une troisième équipe a utilisé des cellules souches mésenchymateuses dans leur Co-culture.

Après 4 semaines et en présence de cytokines, les cellules CD34+ se différenciaient en cellules B immatures exprimant l'IgM à leur surface.

2. Sources des HSC :

Trois sources de HSC existent chez l'Homme: la moelle osseuse, le sang périphérique et le sang de cordon ombilical.

2.1. La moelle osseuse :

C'est la source historique de CSH, utilisée dans le cadre des allogreffes et des autogreffes.

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

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

Dans le cadre des greffes allogéniques, on propose au donneur, pour améliorer son confort, une autotransfusion; deux semaines environ avant le don de moelle, on réalise un prélèvement de sang sur le donneur (300 à 400ml comme un don de sang habituel); la poche est ensuite conservée et transfusée à ce même donneur au décours immédiat du prélèvement de moelle afin de compenser la déperdition sanguine liée à ce prélèvement [17].

2.2. Le sang périphérique :

Le sang périphérique adulte renferme physiologiquement un très petit nombre de CSH non utilisables en pratique. Toutefois l'on peut maintenant mobiliser ces CSH grâce aux facteurs de croissance hématopoïétiques. Seul est utilisé maintenant le facteur de stimulation Colonie granulocytaire (G-CSF). Les CSH, comptabilisées alors en énumérant les cellules CD34+, sont ensuite recueillies par cytophérèse (1 à 3) [18].

Cette source de CSH est surtout utilisée en matière d'autogreffe; les cellules sont

mobilisées soit au décours d'un cycle de chimiothérapie suivi de l'administration d'un facteur de croissance en général à la dose de 5 microgrammes/Kg par jour pendant 7 à 12 jours, soit après administration du seul facteur de croissance (10 microgrammes/Kg pendant 4 à 5 jours).

De façon plus récente, les CSH périphériques sont également utilisées dans le cadre des allogreffes, les CSH étant mobilisées, bien sûr, par le facteur de croissance seul.

L'intérêt à prélever des CSH périphériques est lié au fait que l'on évite une anesthésie générale [19](ce qui ne signifie pas que l'administration de G-CSF doit être considérée comme anodine) et que l'on peut recueillir un plus grand nombre de progéniteurs hématopoïétiques.

2.3. Le sang placentaire :

Le sang placentaire qui reflue du cordon ombilical après l'accouchement contient un nombre significatif de cellules souches. Celles-ci peuvent être récoltées sans aucun dommage pour la mère ni pour l'enfant et congelées en vue d'une greffe ultérieure.

En raison du faible nombre de cellules souches par greffon, ce type de transplantation est pratiqué principalement chez des enfants [20].

Chez les adultes, la période d'aplasie médullaire qui suit une greffe de sang de cordon est beaucoup plus longue qu'après une greffe de cellules souche médullaires, ce qui expose davantage les patients à des complications infectieuses ou hémorragiques. Cette source de cellules souches comporte plusieurs avantages et inconvénients.

a. Avantage:

- Il a été observé qu'à degré de compatibilité égal, l'incidence de la maladie du greffon contre l'hôte (GvHD) après greffe de sang de cordon est inférieure à celle observée après greffe de HSC médullaires[21]. Cette moindre incidence de la GvHD lors de la greffe de HSC de sang de cordon est attribuée à leur immaturité immunologique et permet d'envisager la réalisation de greffes non strictement HLA identiques.

- Ressources illimitées.
- Disponibilités immédiates du greffon permettant de réduire le délai d'attente avant greffe.
- Possibilité de prélever les membres des minorités ethniques peu représentées dans les fichiers actuels de donneurs volontaires de moelle osseuse.
- Les agents infectieux sont beaucoup moins courants chez les nouveau-nés que chez les adultes.

b. Inconvénients:

- Le nouveau-né peut porter une maladie génétique non diagnostiquée [22].
- Le sang placentaire peut avoir été prélevé pendant une période durant laquelle un agent infectieux était peut-être présent chez la mère mais non encore détectable par des techniques sérologiques.
- La reprise hématologique est plus lente que lors d'une greffe de moelle ou de sang périphérique, soit à cause du nombre réduit de cellules souches greffées [23] soit à cause de leur plus grande immaturité par rapport aux cellules souches adultes, ce qui déterminerait un délai de maturation plus long avant de pouvoir rétablir une hématopoïèse complète.

3. Moyens d'étude des cellules souches hématopoïétiques :

3.1. Identification expérimentale des HSC :

Aucune de ces deux propriétés – multi potence et auto renouvellement – n'est facilement identifiable pour affirmer le caractère «souche» d'une cellule; celle-ci doit en revanche fonctionner à long terme et donc être capable d'un grand nombre de divisions cellulaires. C'est cette propriété qui distingue une cellule souche de ses descendants directs, les progéniteurs, dont le nombre possible de divisions et le potentiel sont amputés en comparaison de ceux de la cellule parentale. Acquérir la preuve qu'une cellule est souche nécessite de caractériser sa

descendance, in vitro et in vivo: il s'agit donc d'une identification indirecte et rétrospective.

L'équipe du Dr Dexter a mis au point une méthodologie permettant de cultiver in vitro pendant plusieurs semaines les précurseurs hématopoïétiques de souris [24]. Cette méthodologie est appelée : culture à long terme.

Les cellules hématopoïétiques sont incubées au contact de cellules stromales pendant 5 à 6 semaines. A ce terme, la suspension cellulaire est transférée en milieu semi-solide dans le but d'énumérer les progéniteurs clonogènes secondaires, reflet de la présence de cellules hématopoïétiques LTC-IC.

Elle consiste à incuber des cellules hématopoïétiques au contact de cellules stromales médullaires. Celles-ci se composent d'une variété de types cellulaires tels que fibroblastes, adipocytes, macrophages et cellules endothéliales, et sont supposées reproduire in vitro le microenvironnement médullaire, sans apporter de facteurs de croissance exogènes. Ce système de culture a permis de mettre au point chez l'Homme un test que l'on appelle LTC-IC, de qui identifie un progéniteur très précoce capable de générer des cellules hématopoïétiques après mise en culture sur des cellules stromales [25]. De nombreux arguments indiquent que les LTC-IC sont biologiquement distinctes des progéniteurs clonogènes directs (CFU). D'une part, il est possible de séparer ces deux types cellulaires suivant leur expression antigénique. D'autre part, CFU et LTC-IC montrent une sensibilité différente à certains facteurs de croissance. Enfin, l'activité mitotique des CFU est nettement plus élevée que celle des LTC-IC [25].

Récemment, une nouvelle approche a été développée pour établir un modèle in vivo de la cellule souche hématopoïétique humaine par transplantation à des souris présentant un syndrome d'immunodéficience combinée sévère (SCID) responsable de l'absence de cellules B et T fonctionnelles et un diabète congénital (NOD) conférant un déficit en cellules NK [26]. Les cellules hématopoïétiques primitives humaines, injectées en intraveineuse à la souris NOD/SCID préalablement irradiée, ont la capacité de coloniser le microenvironnement médullaire murin, d'y proliférer et de produire une descendance lympho myéloïde. Celles-ci ont été qualifiées de (SRC).

Après irradiation, la souris NOD/SCID reçoit par intraveineuse des cellules souches

hématopoïétiques humaines. Ces cellules ont la capacité de coloniser le microenvironnement médullaire murin, d'y proliférer et de produire une descendance lymphomyéloïde.

Une analyse du chimérisme est effectuée sur les cellules de moelle osseuse récupérées. La présence de cellules CD19⁺ et CD33⁺ dans la population de cellules humaines CD45⁺ indique un repeuplement médullaire lymphomyéloïde.

Les cellules humaines présentes dans la moelle osseuse de la souris NOD/SCID dérivent d'une fraction infime (< 0,1 %) de cellules médullaires transplantées qui, par prolifération et différenciation, produisent des quantités massives de progéniteurs humains [27]. Les propriétés fonctionnelles des SRC sont donc semblables à celles de cellules souches vraies. Bien que les SRC représentent des cellules hématopoïétiques très primitives, leur place exacte dans la hiérarchie cellulaire des cellules souches et leur relation avec progéniteurs hématopoïétiques in vitro (LTC-IC) ne sont pas encore bien établies. Si les LTC-IC et les SRC présentent le même phénotype antigénique, elles sont néanmoins distinctes par leur fréquence ainsi que par leur degré de prolifération in vitro: la proportion de SRC parmi les cellules médullaires nucléées est environ 100 fois inférieure à celle des LTC-IC. De plus, dans des conditions de culture qui permettent d'obtenir une expansion significative des LTC-IC, une amplification parallèle des SRC n'a pu être obtenue [28]. Il faut néanmoins souligner que le modèle de transplantation xénogénique à la souris NOD/SCID est hautement artificiel. Premièrement, l'immunodéficiência des souris hôtes reste incomplète et la survie des HSC humaines greffées est limitée par l'activité NK résiduelle. C'est pourquoi l'injection d'un anti-NK à la souris NOD/SCID favorise la prise de greffe. L'équipe de McKenzie a montré que l'injection à la souris NOD/SCID d'un anticorps anti-CD122 (récepteur β de l'IL-2) permettait un meilleur repeuplement que chez des souris NOD/SCID non traitées. De plus, ils ont remarqué que ces souris NOD/SCID traitées montraient un meilleur chimérisme que des souris NOD/SCID- $\beta 2m/-$ (chez qui les cellules NK sont génétiquement délaitées) [29].

Deuxièmement, la réactivité croisée entre les facteurs de croissance hématopoïétiques humains et murins est partielle, ce qui limite la prolifération et la différenciation des cellules souches implantées. Troisièmement, la détection des HSC humaines chez la souris NOD/SCID est

conditionnée par leur capacité à migrer à partir du sang périphérique et à s'implanter dans le microenvironnement médullaire de la souris hôte [30].

Or, cette propriété n'est présentée que par une minorité de HSC, de l'ordre de 2 à 10% [31]. L'injection intra-osseuse directe permet d'ailleurs d'augmenter de 15 fois la détection des SRC, par rapport à la voie d'administration intraveineuse. On notera enfin que la tolérance immunologique de l'hôte et les capacités d'implantation des HSC n'interviennent pas dans la détection des LTC-IC; les cellules hématopoïétiques étant ensemencées au contact direct de cellules stromales.

3.2. Expansion en vivo des HSC, culture à longterme :

De nombreuses études ont tenté d'amplifier les HSC ex vivo dans des cultures cellulaires supplémentées de différentes combinaisons de cytokines hématopoïétiques. Approximativement 1 % des cellules lin-CD34-CD38- sont capables de proliférer rapidement en culture liquide sans sérum et contenant du FLT-3 ligand (FL), du SCF, de la TPO, de l'IL-3 et de l'IL-6 pour produire une augmentation nette de 28 ± 8 fois des cellules totales endéans les 10 jours. 5 ± 2 % de ces cellules sont CD34+ et $2,5 \pm 0,9$ % sont des cellules formant des colonies érythrocytes, granulopoïétiques, mégacaryocytiques ou mixtes [32]. Une meilleure amplification est obtenue après traitement avec du SCF + TPO + FL + IL-6 augmentant la population des progéniteurs de 45 fois durant une période relativement courte de 7 jours. La plus forte expansion de cellules CD34+ est obtenue avec un cocktail contenant du FL + TPO + IL-6 + IL-11. La moyenne d'expansion de ces cellules est de 235 fois à 5200 fois respectivement après 5 et 10 semaines de culture [3].

Cependant, différents investigateurs ont rapporté que la présence d'une couche de cellules nourricières améliore l'expansion des progéniteurs primitifs. L'addition de MSC comme souche de cellules nourricières fournit des conditions améliorant l'expansion des progéniteurs hématopoïétiques précoces CD34+CD38-HLA-DR comparé aux cytokines seules et peut limiter leur différenciation et le niveau d'apoptose durant des expansions de courte durée in vitro [34].

D'autres observent que cette augmentation d'expansion ne nécessite pas la sélection des cellules CD34+ avant leur amplification. Après Coculture de cellules CD34+ avec des MSC humaines dans un milieu supplémenté de cytokines, l'équipe d'Almeida-Parada observe une expansion des cellules indifférenciées CD34+CD38- et une différenciation dans la lignée granulo-monocytaire. Le développement d'une population cellulaire CD7+ est aussi observé. Les MSC de sang de cordon ombilical peuvent également soutenir la prolifération des progéniteurs hématopoïétiques ex vivo [35].

La culture de HSC avec des MSC en contact ou sans contact ou avec du milieu conditionné par les MSC augmente le nombre de cellules totales en culture, de CFC et de cellules CD34+ par rapport à la culture avec uniquement des cytokines.

Aucune différence n'a été observée entre le milieu conditionné par les MSC et la culture sans contact tandis que la culture en contact donnait les meilleurs résultats. Ceci suggère que des facteurs solubles jouent un rôle dans ce support mais qu'ils ne sont pas suffisants, un contact direct reste nécessaire pour favoriser l'expansion.

IL-6, sécrétée abondamment par les MSC, jouerait un rôle partiel. Plus de LTC-IC sont observées dans la fraction adhérente comparée à la fraction non adhérente. Pro géniteurs primitifs sont plus adhérents aux MSC [36].

Après Co-culture de cellules CD133+ du sang périphérique sur un tapis de MSC, l'équipe d'Alaköl a étudié le phénotype de cellules amplifiées adhérentes comparé aux non adhérentes. Les cellules amplifiées adhérentes aux MSC montrent un phénotype moins différencié avec plus de cellules CD34+CD133+, CD34+CD38-et CD133+CD38- comparé aux cellules non adhérentes. De plus, les cellules adhérentes expriment le CXCR4 contrairement aux non adhérents et migrent mieux vers un gradient de SDF-1. Dans des études de CFC et de LTC-IC, les cellules adhérentes montrent une meilleure capacité proliférative. Ceci démontre l'importance d'utiliser une couche de cellules nourricières dans les systèmes de culture de HSC.

L'adhésion et le contact direct cellule-cellule avec des MSC supportent l'expansion ex vivo, le potentiel migratoire et la potentielle souche des progéniteurs hématopoïétiques [37].

3.3. Expansion des SRC :

Pour tenter d'améliorer la prise de greffe des HSC, deux techniques principales ont été développées.

Tout d'abord, les HSC sont **cultivées ex vivo** avant l'injection. Utilisant une combinaison de SCF + FL + TPO + IL-6/SIL-6R (complexe d'IL-6 et du récepteur soluble d'IL-6), l'équipe d'Ueda a cultivé des cellules CD34+ de sang de cordon ombilical pendant 7 jours et a transplanté ces cellules à des souris NOD/SCID. 13 des 16 souris hôtes ont été greffées avec succès et les cellules CD45+ humaines représentaient 11,5 % des cellules de la moelle des souris hôtes greffées. L'addition d'IL-3 à la combinaison de cytokines annulait la capacité de repeuplement des cellules amplifiées. Une autre étude montre que la culture de cellules CD34+ en présence de SCF, TPO et FGF-1 maintient les SRC, mais l'ajout d'angiopoïétin-like protéines et d'IGF-binding protein 2 permet l'amplification des SRC. Les cellules peuvent également être amplifiées sur un stroma. Par exemple, les MS-5 (lignée de cellules stromales murines) fournissent un milieu qui stimule la prolifération des progéniteurs primitifs incluant des cellules souches transplantables. L'utilisation de cellules stromales immortalisées augmente également le degré de prise de greffe, en particulier si ces cellules sont transfectées avec TPO et FL. La transplantation dans le fœtus de mouton démontre également que les HSC cultivées sur des MSC gardent leur potentiel de prise de greffe. L'utilisation de cytokines, en plus du stroma, favorise encore plus la prise de greffe. L'amplification de cellules CD34+ pendant 5 jours sur un tapis de cellules HESS-5 en présence de TPO, FL et IL-3 dans du milieu sans sérum augmente significativement la prise de greffe comparé aux cellules non cultivées [38]. Les souris greffées avec le produit d'expansion de 2 semaines de Co-culture de cellules CD34+ sur un tapis de MSC en présence de TPO, SCF et FL montrent un meilleur chimérisme humain et un plus grand nombre de souris greffées avec succès qu'après greffe de cellules CD34+ non cultivées. Cet effet est augmenté après 4 semaines de culture et est plus important avec des faibles doses de cellules de départ. Lorsque les cellules CD34+ sont cultivées de la même façon en remplaçant le sérum de veau fœtal par du sérum humain AB, la même augmentation du chimérisme est obtenue. La Co-culture de cellules

stromales et de HSC favorise l'expression de CXCR4 par les progéniteurs hématopoïétiques précoces. Cette expression est également induite lors de cultures sans contact, suggérant un rôle des facteurs solubles tels que Wnt puisque l'induction de CXCR4 est inhibée par DKK (inhibiteur de la voie Wnt). Ces cellules acquièrent une capacité de homing pour se greffer dans la moelle de souris NOD/SCID [39].

La seconde technique permettant de favoriser la prise de greffe des HSC est l'injection simultanée de MSC. En effet, la transplantation de cellules CD34+ de sang de cordon ombilical en présence de MSC résulte en une prise de greffe significativement plus importante qu'après transplantation de cellules CD34+ seules.

L'effet le plus prononcé est observé après transplantation de doses relativement faibles de CD34+. L'analyse des sous-populations de cellules humaines dans la moelle osseuse des souris NOD/SCID révèle que l'effet d'augmentation de la prise de greffe par les MSC n'est pas restreint à une lignée particulière mais inclut bien les cellules myéloïdes et lymphoïdes, Cette Co-transplantation de HSC et de MSC favorise la prise de greffe de façon dose dépendante, le meilleur rapport HSC/MSC est 1/8 à 1/16. Cependant, des doses trop importantes de MSC peuvent diminuer la prise de greffe [40].

3.4. La greffe de cellules souches Hématopoïétiques :

Terme de greffe désigne à la fois l'objet et l'opération:

- ❖ Portion de l'organisme prélevée sur un individu afin de l'implanter soit sur une autre partie du corps, soit sur le corps d'un autre individu de même espèce.
- ❖ Opération par laquelle on implante un greffon.

Un second terme forgé sur la même racine désigne l'objet: greffon, qui est défini comme un fragment de tissu ou d'organe transplanté.

Terme de transplantation est un peu plus restrictif, et désigne seulement l'opération: greffe d'un organe entier avec rétablissement des connexions vasculaires.

La transplantation de cellules souches hématopoïétiques est une administration intraveineuse de cellules souches hématopoïétiques, dans le but de rétablir la fonction médullaire chez un patient ayant une moelle osseuse détruite par un traitement intensif pour le traitement d'une pathologie tumorale, notamment une hémopathie maligne, ou une moelle osseuse défectueuse dans le cas d'une aplasie médullaire, d'un déficit immunitaire primitif ou d'une anomalie constitutionnelle grave de l'hématopoïèse ou d'un système enzymatique [41,42].

Il y a lieu, aujourd'hui, de ne plus parler de greffe de moelle osseuse mais de "greffe de cellules souches hématopoïétiques" dans la mesure où, d'une part, seules les cellules souches sont "intéressantes" en matière de greffe, et d'autre part, la majorité des greffes sont réalisées à partir de cellules souches hématopoïétiques d'origine périphérique et un nombre croissant à partir sang de cordon. Dans le contexte pédiatrique toutefois, il est à noter que la moelle osseuse constitue encore, en 2008 en France, la source de 65,1 % des greffes allo géniques chez les enfants de moins de 18 ans [43].

En fonction du type de pathologie considéré, plusieurs stratégies peuvent être choisies.

- A.** Les cellules souches peuvent être prélevées chez le patient, amplifiées, voire même prédifférenciées in vitro avant réimplantation. Ce type de traitement ne peut être envisagé uniquement dans le contexte où la pathologie n'est pas le résultat d'une mutation somatique. Dans ce cas, une thérapie génique doit alors y être couplée.
- B.** Des cellules souches de type hématopoïétiques et mésenchymateuses peuvent être isolées à partir de sang de cordon ombilical. Il y a peu de données actuellement sur les potentialités de ces cellules qui permettraient de contourner les importants problèmes éthiques en rapport avec l'utilisation des cellules souches embryonnaires.
- C.** Les cellules souches peuvent provenir de la masse cellulaire interne d'un blastocyste, isolées en culture et spécifiées de manière contrôlée in vitro avant réimplantation. Les potentialités des CSEh commencent à être bien caractérisées in vitro, mais très peu de données sont connues à ce jour in vivo quant à leurs capacités à s'intégrer de manière

effective chez l'adulte.

- D.** Dans ce cas, le patrimoine génétique du patient est introduit dans des cellules souches embryonnaires. Cette méthode, dite de transfert nucléaire, ne sera pas applicable aux maladies génétiques pour les mêmes raisons qu'en A. Mis à part les cas d'autogreffe de cellules souches adultes qui excluent tout rejet de la part du patient, les autres stratégies posent des problèmes immunologiques plus ou moins étendus.

Cependant, il a été montré que les cellules souches embryonnaires humaines étaient moins immunogènes que des cellules souches adultes. La méthode de transfert nucléaire semblait être une bonne alternative afin d'éviter les rejets puisque le patrimoine génétique du patient est introduit pour élaborer un blastocyte. Cependant, très peu de choses sont connues sur l'importance de l'expression de l'ADN mitochondrial de l'ovocyte qui lui sera différent de celui du patient[44].

III. Autogreffe des CSH :

L'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) après intensification thérapeutique consiste en l'administration d'une chimiothérapie intensive, extrêmement aplasante, suivie de la réinjection d'un greffon autologue qui permet une reconstitution hématologique rapide. Cette procédure permet de raccourcir significativement la durée d'aplasie théorique, et de fait, diminue la morbidité et la mortalité du traitement intensif à un seuil acceptable pour le patient. L'utilisation de l'autogreffe comme support pour des chimiothérapies moins intensives, afin de respecter des délais courts entre deux cycles de chimiothérapie, n'a pas à ce jour montré un grand intérêt. Moins d'une centaine d'autogreffes sont réalisées par an en France dans cette optique.

L'autogreffe de CSH s'est largement développée durant les deux dernières décennies, notamment grâce à l'utilisation des facteurs de croissance hématopoïétiques. À quelques

exceptions près (quelques cas de tumeurs solides, affections auto-immunes), l'autogreffe est indiquée dans la prise en charge des hémopathies malignes.

Contrairement à l'allogreffe, il n'y a pas d'effet antitumoral propre du greffon, mais des techniques de manipulation du greffon peuvent être utilisées pour augmenter ses capacités immunitaires (affections malignes) ou au contraire induire une immunosuppression durable (affections auto-immunes).

1. Prélèvement des cellules souches :

La grande majorité des prélèvements se fait par mobilisation de cellules souches périphériques (CSP) et non plus par prélèvements médullaires, pour plusieurs raisons : tout d'abord éviter une anesthésie générale, mais aussi permettre une reconstitution hématopoïétique plus rapide et diminuer la contamination potentielle du greffon par des cellules tumorales résiduelles [45].

La cytophérèse se déroule en ambulatoire, le patient non à jeun, confortablement installé et surveillé (tension artérielle, pouls, électrocardiogramme). Elle nécessite un séparateur de cellules à flux continu, dont divers modèles sont disponibles, d'efficacité comparable. La procédure est assez longue, car elle nécessite le traitement d'un volume de deux à trois masses sanguines. Sa durée dépend du volume sanguin du patient et de la qualité de ses accès veineux périphériques. Généralement bien tolérée, la procédure de cytophérèse comporte certains effets indésirables : thrombopénie, hypovolémie, hématomes aux points de ponction veineuse, plus rarement complications liées à la pose d'un cathéter central (thrombose ou infection), hypocalcémie induite par l'anticoagulant utilisé (solution de citrate, ACD-A).

Ce dernier effet secondaire peut être facilement prévenu en réduisant le débit de prélèvement et le ratio d'anticoagulant, et en apportant du calcium intraveineux pendant la procédure.

La richesse en CSH du sang ou du greffon est évaluée par l'expression de la molécule

membranaire CD34 en cytométrie de flux. Cependant, seule une faible fraction de ce pool de cellules CD34⁺ (1/1000) est constituée d'authentiques CSH. Même le phénotype classique de la CSH (Lin⁻, Sca-1⁺, c-kit⁺, CD150⁺ et en G0 du cycle cellulaire) est remis en question par des données de 2014 montrant une grande plasticité dans ce phénotype, liée notamment à une continuelle remise en cycle des CSH [46].

Un taux de cellules CD34⁺ circulantes au moins égal à 10/l permet de réaliser la collecte par cytophérèse. Le nombre minimal de cellules CD34 à collecter pour obtenir un greffon qui permet une bonne reconstitution hématologique est estimé à 2×10^6 /kg. Par sécurité, le nombre optimal est fixé à 5×10^6 /kg [47].

La marge de sécurité est assez large ; en effet, pour les doses de CD34⁺ supérieures à $0,5 \times 10^6$ /kg, les délais médians de reconstitution de l'hématopoïèse ne varient que très peu. Ils passent de 11 jours ($0,5$ à $2,5 \times 10^6$ /kg) à 8 jours ($> 12,5 \times 10^6$ /kg) pour un taux de polynucléaires neutrophiles supérieur à 0,5 G/l, et de 12 jours ($0,5$ à $2,5 \times 10^6$ /kg) à 8 jours ($> 12,5 \times 10^6$ /kg) pour une reconstitution plaquettaire supérieure à 20 G/l. Les autres paramètres à considérer sont l'impact significativement favorable sur les neutrophiles de l'utilisation de *granulocyte - colony stimulating factor* (G-CSF) et l'impact défavorable sur la reconstitution plaquettaire lorsque le recueil d'un greffon suffisant a nécessité de réaliser plus d'une mobilisation. De nombreux facteurs peuvent a priori laisser présager une mauvaise collecte, comme certaines chimiothérapies (fludarabine, sels de platine, légalidomide), une numération plaquettaire faible, une moelle pauvre, un faible taux basal de CD34⁺, une irradiation préalable ou un âge avancé. La mobilisation des cellules souches requiert l'utilisation d'un facteur de croissance, le G-CSF essentiellement.

Le mécanisme d'action du G-CSF passe par l'augmentation du contingent granuleux médullaire, mais aussi par la diminution d'expression des molécules d'adhésion des cellules souches, dont l'interaction SDF-1/CXCR4, mécanisme exploité plus spécifiquement par le plérixafor (cf. infra). La mobilisation peut se faire selon deux schémas. Soit « à l'équilibre »,

c'est-à-dire à distance de toute chimiothérapie, alors que le fonctionnement médullaire est à l'état basal. On utilise alors du G-CSF à la dose de 10 microg/kg par jour, avec en général une augmentation significative des CD34+ à partir du cinquième jour. L'autre possibilité est l'utilisation d'une chimiothérapie de mobilisation, la plus courante étant certainement le cyclophosphamide à forte dose (3 à 6 g/m²). Dans ce cas, la dose de G-CSF est souvent réduite à 5 microg/kg par jour car l'aplasie induite par la chimiothérapie provoque déjà, lors de la récupération médullaire, un passage sanguin de cellules hématopoïétiques CD34+. La chimiothérapie de mobilisation permet une meilleure collecte de CSH, diminue la contamination du greffon par des cellules tumorales et augmente la réponse au G-CSF. En cas d'échec de la collecte par G-CSF associée ou non à la chimiothérapie, l'utilisation du plérixafor permet d'obtenir malgré tout un greffon autologue de qualité acceptable chez un certain nombre de patients.

Le plérixafor (Mozobil®, AMD3100) est une molécule qui inhibe l'interaction entre SDF-1 et CXCR4. Il est habituellement utilisé à la dose de 240 microg/kg par voie sous-cutanée, en association avec le G-CSF à la dose de 10 microg/kg. Il est nécessaire de respecter un délai d'une dizaine d'heures avant la cytophérèse. En effet, la courbe de la concentration de cellules CD34+ en fonction du temps comporte un pic à neuf heures après l'injection sous-cutanée de plérixafor seul et un pic à dix heures en association au G-CSF.

Néanmoins, si l'on suit le taux de CD34+ de façon répétée après l'injection de plérixafor, on observe que le taux de CD34+ suffisant pour déclencher le début de la cytophérèse est souvent obtenu dès la troisième heure, avec une diminution souvent rapide après la huitième heure, d'où la nécessité d'un dosage précoce des CD34+, surtout chez les mauvais mobilisateurs [47].

Le plérixafor permet de mobiliser les CSH chez certains patients en échec après mobilisation standard et il est dans certains cas utilisé d'emblée chez des patients présentant des facteurs de risque de mauvaise mobilisation.

Une étude randomisée en double aveugle dans le myélome a montré que l'utilisation du

plérixafor permettait de mobiliser plus de 6×10^6 CD34+/kg dans plus de 71 % des cas, contre seulement un peu plus de 34 % dans le groupe traité par G-CSF seul [48].

Il a aussi été mis en évidence que l'utilisation du plérixafor permet de mobiliser une population de cellules souches plus primitives, donc plus clonogéniques, identifiées par leur phénotype CD34+ CD38- et une expression forte de l'aldéhyde déshydrogénase [49].

D'autres inhibiteurs de l'interaction CXCR4/SDF-1 sont en cours de développement, comme le peptide POL6326, le TG-0054, le NOX-A12 ou le BTK140.

Ce dernier composé a donné des résultats intéressants car il a une affinité pour CXCR4 20 fois supérieure au plérixafor, et permet, avec une seule injection à la dose de 0,9 mg/kg, un recueil médian de plus de 20×10^6 CD34+/kg, chez des patients en première ligne de mobilisation pour myélome [50].

Ce composé BTK140 aurait de plus une action antimyélo mateuse directe. En plus du plérixafor, utilisé en pratique clinique courante, et des autres inhibiteurs de l'interaction CXCR4/SDF-1, d'autres molécules présentent un intérêt potentiel (pour revue [51]).

Le *stem cell factor* (SCF, ligand de c-kit), dans sa forme membranaire, induit l'adhésion des cellules souches au stroma médullaire en se liant à c-kit, cette interaction pouvant être inhibée en utilisant la forme soluble du SCF. Une étude récente a montré qu'une collecte d'au moins 2×10^6 /kg CD34+ peut être obtenue grâce à l'utilisation du SCF (Ancestim®) chez 31 % des patients mauvais mobilisateurs [52].

Les agonistes de la sphingosine-1-phosphate (S1P) augmentent la mobilisation des CSP induite par les inhibiteurs de CXCR4 [53].

L'inhibition des intégrines *very late antigen 4* (VLA-4) / *vascular adhesion molecule 1* (VCAM-1) par l'anticorps monoclonal natalizumab induit une augmentation significative des CSH circulantes.

On a pu observer chez les patients traités par le natalizumab pour une sclérose en plaques que cet effet persiste dans l'intervalle qui sépare les perfusions mensuelles [54].

Cet effet rémanent pourrait être intéressant pour des protocoles de mobilisation chez les patients mauvais répondeurs. Autre effet intéressant, celui de la parathormone sur les taux de

CSH circulants, permettant d'obtenir une mobilisation satisfaisante chez plus de 40 % des patients après échec d'un ou deux protocoles de mobilisation [55].

L'hypoxie est un facteur de quiescence pour les cellules souches ; l'*hypoxia-inducible factor* (HIF) induit l'augmentation d'expression du *vascular endothelial growth factor* (VEGF), qui provoque à son tour une vasodilatation des sinusoides médullaires et par là-même facilite le passage sanguin des CSH. Ceci a été mis à profit par l'utilisation du FG-4497, stabilisateur de HIF-1, qui augmente d'un facteur six la mobilisation provoquée par l'association de G-CSF et de plérixafor [56].

Enfin, il faut noter que l'inhibiteur du protéasome bortézomib (Velcade®), molécule capitale dans le traitement du myélome, améliore la mobilisation des cellules souches en association avec la chimiothérapie de mobilisation classique cyclophosphamide/G-CSF, avec un nombre médian de cellules CD34+ collectées supérieur à $20 \times 10^6/\text{kg}$ chez 85 % des patients [57].

Un autre élément important à considérer lors de la collecte est la technique d'aphérèse utilisée (pour revue [58], mais les différences entre les systèmes de collecte en flux continu disponibles n'ont qu'un impact modeste sur la richesse du greffon par rapport aux facteurs prédictifs précollecte liés au patient lui-même.

Si la collecte de cellules souches est insuffisante, une alternative consisterait à procéder à l'expansion de ces cellules *in vitro* (pour revue [59]).

Les premières tentatives d'expansion utilisaient des cytokines jouant un rôle important dans l'hématopoïèse, telles que le SCF, FLT3L, Tpo, les interleukines 3, 6 ou 11.

Cependant, ces cocktails de cytokines induisent le plus souvent une différenciation des cellules, avec pour résultat un appauvrissement du greffon en cellules dotées de capacité de repopulation à long terme. Dans le meilleur des cas, on aboutit à une amplification modeste au prix d'un surcoût important, rendant la procédure inapplicable en routine clinique.

La modulation des voies métaboliques gouvernant la différenciation/division des cellules souches hématopoïétiques (WNT, NOTCH, TGF β) pourrait permettre de contrôler les divisions cellulaires asymétriques et d'obtenir l'expansion du greffon tout en préservant le pool

de cellules indifférenciées. Enfin, des molécules utilisées en hématologie dans d'autres indications (acide tout-trans-rétinoïque, prostaglandine E2, inhibiteurs d'histone désacétylases) pourraient théoriquement permettre l'autorenouveau in vitro des cellules souches hématopoïétiques.

Une fois collectées, les cellules doivent être le plus souvent congelées, car la réinjection est différée, bien que l'on puisse utiliser des cellules souches non congelées jusqu'à neuf jours après le recueil sans nuire à la reconstitution hématopoïétique [60].

La conservation du greffon se fait le plus souvent en azote liquide, car même si le stockage à -80°C est possible, la viabilité cellulaire ne permettrait un délai de conservation que de quelques mois.

Les techniques en azote liquide peuvent utiliser la phase liquide à -196°C , qui permettrait la dissémination de certains champignons et des virus, ce qui fait en fin de compte préférer la technique en vapeur d'azote à -156°C (pour revue [61]).

2. Contamination du greffon :

La déplétion en cellules tumorales contaminant le greffon autologue par des techniques in vitro ou ex vivo a perdu quelque peu d'intérêt, notamment grâce aux progrès effectués durant les dernières années dans le traitement du myélome et des lymphomes.

Selon une étude ancienne et non randomisée dans le myélome, la sélection positive des cellules CD34+, censée éliminer les précurseurs plasmocytaires, n'apporte pas de bénéfice [62].

Une étude plus récente a comparé 24 patients ayant bénéficié d'une sélection positive des CD34+ par technique CliniMACS à 32 patients autogreffés avec un greffon non manipulé [63].

Le taux de survie globale à trois ans était de 91 % dans le groupe « sélection CD34+ » versus 56 % pour les greffons non manipulés, avec des taux de survie sans progression respectifs de 79 % et 53 %. Dans le groupe traité par greffon manipulé, le délai de reconstitution hématologique était plus long et l'incidence des réactivations du cytomégalovirus plus élevée,

sans que cela ne se traduise par une augmentation de la mortalité. Néanmoins, le faible effectif de cette étude et l'hétérogénéité des patients empêchent toute conclusion définitive.

Dans les leucémies aiguës, une étude récente montre une corrélation entre le niveau du transcrite du gène WT-1 dans le produit de cytophérèse et le risque de rechute, mais évidemment cette donnée peut aussi simplement refléter la charge tumorale résiduelle du patient et n'est pas un argument décisif pour la purge du greffon [64].

Dans le lymphome folliculaire en rechute, une étude randomisée a montré que la purge du greffon n'améliore pas le pronostic [65].

La purge du greffon a pu aussi être incriminée dans l'augmentation des complications infectieuses [66].

En conclusion, la contamination du greffon apparaît plutôt comme un reflet de la charge tumorale résiduelle, ce qui incite à améliorer la purge « in vivo » c'est-à-dire le traitement préalable de l'hémopathie, plutôt que d'éliminer les cellules tumorales résiduelles du greffon. Néanmoins, cette notion est à moduler car à mesure que l'efficacité du conditionnement de l'autogreffe s'améliore, les quelques cellules tumorales résiduelles du greffon peuvent redevenir un élément important du risque de rechute.

3. Bilan prégreffe

La réalisation en toute sécurité de l'autogreffe, dont le risque essentiel réside dans la période d'aplasie, nécessite un bilan prégreffe rigoureux pour minimiser les risques de la procédure [67].

4. Conditionnement

Si l'irradiation corporelle totale a pu être utilisée dans certains cas en association à divers conditionnements, cette procédure semble apporter plus de toxicité sans gain thérapeutique appréciable, à quelques exceptions près. Les chimiothérapies de conditionnement

les plus classiques sont le melphalan à haute dose dans le myélome et les polychimiothérapies BEAM (carmustine, étoposide, cytarabine, melphalan), CBV (cyclophosphamide, carmustine, étoposide), BEAC (carmustine, étoposide, cytarabine, melphalan) dans les lymphomes. Dans le myélome du sujet jeune,

la dose de référence de melphalan est de 200 mg/m², depuis que l'Intergroupe francophone du myélome (IFM) a montré que cette dose de melphalan seul était aussi efficace et moins toxique que l'association de melphalan 140 mg/m² et d'une irradiation corporelle totale de 8 Gy. De même, l'association busulfan-melphalan 140 mg/m² est plus toxique que le melphalan seul, avec une moins bonne réponse [68].

Chez le sujet âgé (au-delà de 65 ans) ou à fonction rénale altérée, le melphalan est utilisé à la dose réduite de 140 mg/m². Une étude de l'IFM a montré l'intérêt de l'association melphalan-bortézomib, qui n'augmente pas la toxicité hématologique du melphalan tout en donnant un meilleur taux de réponse complète [69].

Dans les lymphomes, divers schémas de conditionnement ont été testés, notamment le remplacement du rituximab (R) par un anticorps radioactif. L'association d'ibrutinomab tixétan (Zevalin®) au BEAM est faisable en termes de toxicité mais, selon une étude rétrospective portant sur 46 patients atteints de lymphome du manteau, n'a pas apporté de bénéfice en termes de survie par rapport à R-BEAM [70].

L'adjonction de l'iode 131-tositumomab est techniquement complexe à mettre en œuvre, en France au moins, car l'iode 131 est un émetteur gamma qui impose des précautions particulières. Le remplacement de la carmustine par la bendamustine semble donner des résultats identiques, voire supérieurs au classique BEAM [71].

Certaines formes de lymphomes, touchant en particulier le système nerveux central, semblent bénéficier de conditionnements spécifiques comme l'association rituximab-busulfan-thiotépa [72].

Dans l'amylose, la dose de melphalan peut être réduite de 200 à 140 mg/m² en fonction des facteurs pronostiques, notamment le taux de *brain natriuretic peptide* (BNP) [73].

Les conditionnements utilisés dans le cadre des indications restreintes de greffe autologue pour leucémie aiguë sont eux aussi spécifiques. L'association d'idarubicine à haute dose et de busulfane a donné lieu à une probabilité de rechute de 40 % à deux ans dans le groupe des leucémies aiguës myéloïdes (LAM) de bon pronostic ou de pronostic intermédiaire [74].

Dans les pathologies auto-immunes, le risque léthal lié à la greffe a amené certaines équipes à utiliser des conditionnements atténués. Par exemple, dans la sclérose en plaques, où le conditionnement de référence est le BEAM, l'utilisation d'un conditionnement « mini-BEAM-like » semble donner de bons résultats, sans aucune létalité [75].

Dans la sclérose en plaques, le conditionnement par chimiothérapie classique peut être utilement complété par un traitement immunosuppresseur de type immunoglobulines antithymocytes [76].

Dans le diabète de type 1 d'installation récente, l'autogreffe a pu montrer une certaine efficacité, avec un conditionnement par cyclophosphamide 200 mg/m² plus immunoglobulines antithymocytes, mais au prix d'une toxicité certaine, dont un décès dans une série de 65 patients [34].

5. Indications

L'autogreffe ne se limite pas à l'hématologie maligne, qui constitue néanmoins l'essentiel des indications. En effet, l'autogreffe peut présenter un intérêt dans certains cas très particuliers de tumeurs solides, voire dans des pathologies auto-immunes.

L'EBMT publie des recommandations qui peuvent servir de base à la discussion [77].

Ces indications sont résumées dans les Tableaux XIV et XV, en se limitant à celles qui sont reconnues comme un traitement de référence ou comme une option raisonnable au vu des données disponibles (donc en excluant les possibles essais thérapeutiques en cours). Une discussion au cas par cas est toujours indispensable, pour prendre en compte le profil individuel du patient et intégrer, le cas échéant, les données nouvelles générées depuis l'élaboration de ces recommandations.

5.1. Hémopathies

a. Myélome

L'autogreffe s'est imposée dans le contexte des chimiothérapies « classiques », de type VAD (vincristine, adriamycine, dexaméthasone) ou autres, comme le traitement de référence des patients jeunes (< 65 ans) atteints de myélome. Au-delà de 65 ans, la toxicité de la procédure en diminue l'intérêt. L'arrivée des inhibiteurs du protéasome et des agents dits immunomodulateurs a permis d'obtenir une plus grande efficacité antitumorale du traitement pré-greffe. Les recommandations de l'EBMT restent, pour les patients éligibles, une chimiothérapie de réduction tumorale (quatre à six cycles) contenant deux à quatre substances actives dans le myélome (corticoïdes, inhibiteurs du protéasome, immunomodulateurs et alkylants), suivie de l'autogreffe, dont le conditionnement repose en règle sur le melphalan à haute dose [78, 79].

La collecte des cellules souches est effectuée habituellement dans le sang périphérique, soit à l'équilibre après chimiothérapie d'induction, soit après mobilisation par le cyclophosphamide à haute dose, surtout dans le cas où il existe une charge tumorale persistante significative et des plasmocytes circulants.

Néanmoins, l'efficacité des nouvelles substances, qui permettent d'obtenir des taux de réponse supérieurs à ceux obtenus précédemment par les chimiothérapies classiques suivies d'intensification, pose le problème de la place de l'autogreffe dans la stratégie thérapeutique [80, 81] : en première ou deuxième ligne.

Tableau XIV: Indications onco-hématologiques de l'autogreffe chez l'adulte

Leucémies aiguës myéloïdes Rémission complète ¹ , faible risque Rémission complète ¹ , risque intermédiaire Rémission complète, haut risque Rémission complète ² Leucémie myéloïde chronique	Optionnel Standard de prise en charge Optionnel Optionnel Expérimental
Leucémies aiguës lymphoïdes Rémission complète ¹	Expérimental
Syndromes myélodysplasiques Leucémie aiguë myéloïde(20-30%blastos) Leucémie lymphoïde chronique	Optionnel Optionnel
Lymphomes LBDGC, IPI2-3 LBDGC, rémission complète ² LNH du manteau, rémission complète ¹ ou ² Lymphome lymphoblastique Lymphome de Burkitt LNH folliculaire de haut risque LNH folliculaire, rémission complète ² ou plus Lymphome T Lymphome de Hodgkin, rémission complète ² Lymphome de Hodgkin réfractaire Myélome Multiple Amylose AL	Optionnel Standard Standard Optionnel Optionnel Optionnel Standard Optionnel Standard Optionnel Standard Optionnel Standard Optionnel
<p>Standard : attitude standard pour la majorité des patientes éligibles (et s'il n'existe pas d'autre option thérapeutique définie). Optionnel : à considérer dans certains cas. Expérimental : dans le cadre de protocoles de recherche. Les situations où l'autogreffe n'est pas recommandée n'ont pas été citées dans le tableau. LNH : lymphome non hodgkinien ; LBDGC : LNH B diffus à grandes cellules ; IPI : Index pronostique international.</p>	

Tableau XV : Indications non onco-hématologiques de l'autogreffe chez l'adulte

Affections auto-immunes	Cytopénies auto-immunes Sclérodermie Polyarthrite rhumatoïde Lupus érythémateux disséminé Maladie de Crohn Sclérose en plaques	Optionnel Optionnel Optionnel Optionnel Optionnel Optionnel
Tumeurs solides	Cancer du sein Tumeur à cellules germinales Cancer de l'ovaire Médulloblastome Carcinome pulmonaire à petites cellules Sarcome des tissus mous	Optionnel Optionnel /standard Expérimental Expérimental Expérimental Expérimental

Dans une étude de la Mayo Clinic [82], l'analyse de 290 patients traités en première ligne par thalidomide-dexaméthasone ou lénelidomide-dexaméthasone ne montre pas de différence selon que les patients greffés ont bénéficié d'une autogreffe précoce (dans les 12 mois suivant le diagnostic) ou plus tardive. Toutefois, il ne s'agissait pas d'un essai randomisé et les modalités du choix entre greffe précoce ou tardive n'étaient pas précisées. De plus, l'association d'un immunomodulateur et de dexaméthasone n'est pas en France le traitement de référence en première ligne chez les sujets éligibles à une intensification. Dunavin et al. [83] aboutissent aux mêmes conclusions dans une série de 167 patients ayant reçu des schémas d'induction comportant du bortézomib ou un immunomodulateur. Le retard (> 1 an) de l'autogreffe d'une partie des patients s'explique en réalité par le délai séparant le diagnostic et l'arrivée du patient au centre de référence réalisant l'autogreffe. Dans une étude randomisée, Palumbo et al. [84] ont comparé l'association melphalan, prednisone, lénelidomide à l'intensification suivie d'autogreffe. Ils ont conclu à un bénéfice significatif du traitement intensif en termes de survie sans progression et de survie globale. Un autre essai randomisé du même groupe a comparé chez 389 patients de moins de 65 ans, après une induction par quatre cycles lénelidomide-

dexaméthasone, une consolidation par six cycles de l'association cyclophosphamide-lénalidomide-dexaméthasone à une intensification suivie d'autogreffe. Le taux de survie sans progression à trois ans est significativement meilleur dans le bras avec autogreffe (60 % contre 38 %), sans que cela ne se traduise encore, après un suivi médian de 31 mois, par une différence de survie globale [85].

Dans l'essai IFM/DFCI 2009, le schéma thérapeutique comporte pour tous les patients trois cycles de lénalidomide-bortézomib-dexaméthasone (VRD), une mobilisation des cellules souches par cyclophosphamide, ainsi qu'un traitement d'entretien par lénalidomide.

Dans le bras autogreffe, l'intensification prend place après les trois cycles VRD et la mobilisation ; les autres patients reçoivent cinq cycles supplémentaires de VRD et l'intensification n'est réalisée que lors de la rechute. L'essai HO95 multicentrique européen randomisé, après quatre cycles de chimiothérapie par bortézomib-cyclophosphamide-dexaméthasone, puis recueil des cellules souches mobilisées par cyclophosphamide et G-CSF, une autogreffe simple ou double contre quatre cycles de bortézomib, melphalan, prednisone. Une nouvelle randomisation est prévue pour évaluer l'intérêt d'une consolidation par deux cycles de VRD, un traitement d'entretien par lénalidomide étant proposé à tous les patients. Les résultats de ces deux essais comprenant en tout environ 2500 patients sont attendus pour 2015 et préciseront le positionnement de l'autogreffe dans le myélome.

b. Amylose AL

L'autogreffe n'est pas à ce jour le traitement de référence de l'amylose AL. En dépit de son indubitable efficacité, elle n'a pas permis d'obtenir d'amélioration de la survie par rapport au traitement conventionnel car elle est grevée par la mortalité liée à la procédure, notamment lorsqu'il existe une atteinte cardiaque.

Cette mortalité pourrait cependant devenir inférieure à 10 % grâce à une sélection plus stricte des patients en fonction des facteurs de pronostic pré-greffe, évalué sur les critères suivants [86] : atteinte de plus de deux organes, ECOG supérieur à 1, débit de filtration

glomérulaire inférieur ou égal à 45 ml/min, atteinte cardiaque symptomatique, HS troponine T supérieure ou égale à 0,06 ng/ml, neuropathie autonome, atteinte gastro-intestinale symptomatique, ainsi que NT-proBNP supérieur à 500 pg/ml (pour les patients non dialysés). Le conditionnement à la greffe repose habituellement sur le melphalan à la dose de 200 mg/m², de plus faibles doses semblant donner de moins bons résultats [50].

Le traitement prégreffe est indispensable, car la survie globale est meilleure lorsque l'autogreffe est effectuée après un traitement préalable par bortézomib-dexaméthasone que lorsqu'elle est effectuée d'emblée [87, 88].

Un nouveau facteur pronostique cardiovasculaire a été identifié, l'ostéopontine, dont le rôle dans l'éligibilité à l'autogreffe reste néanmoins à prouver [89].

Enfin, des critères prédictifs de la survie en fonction de la qualité de la réponse au traitement (essentiellement autogreffes) ont été définis par Palladini et al. [90].

Néanmoins, il semble que dans une certaine limite les patients en réponse complète ou en très bonne réponse partielle aient des pronostics peu différents, ce qui ne rend pas indispensable un traitement complémentaire tant qu'il n'est pas observé de progression [91].

c. Lymphomes et hémopathies lymphoïdes

À la suite des études PARMA et CORAL, une chimiothérapie de rattrapage suivie d'une autogreffe est considérée comme le standard de traitement des lymphomes B diffus à grandes cellules en rechute [92, 93].

La meilleure chimiothérapie de rattrapage n'est pas définie. L'étude CORAL [92] n'a pas montré de différence entre le bras rituximab-ICE (ifosfamide, carboplatine, étoposide) et le bras rituximab-DHAP (dexaméthasone, cytarabine à haute dose, cisplatine).

Néanmoins, l'analyse complémentaire par sous-groupes histologiques [94] montre une meilleure réponse à la chimiothérapie de type R-DHAP dans les lymphomes de type centre germinatif, ce qui fait de ce schéma la chimiothérapie de référence. Il importe cependant de souligner que le phénotype a été défini à l'aide de l'algorithme immunohistochimique de Hans

[95] et non par l'étude du profil d'expression génique, déterminé chez seulement 39 patients de l'étude.

Le conditionnement de l'autogreffe est probablement un élément important de la procédure. Le schéma standard est le BEAM, mais des variantes prometteuses ont été proposées. Le schéma ZBEAM (cf. supra) a donné des résultats intéressants en première ligne pour des lymphomes de mauvais pronostic (index pronostique international ≥ 2), avec un taux de survie globale à deux ans de 83 % [96].

En revanche, une étude randomisée qui comparait dans une population de patients en rechute, l'association du schéma BEAM à une radio-immunothérapie par tositumomab marqué à l'iode 131 ou au rituximab a montré une plus grande toxicité (mucites) dans le bras radio-immunothérapie, sans gain de survie à deux ans (61 % versus 65 % respectivement) ni diminution du taux de rechutes (45 % versus 48 % respectivement), mais aussi sans problème particulier de prise du greffon [42].

Dans le protocole BEAM, la carmustine est remplacée par la bendamustine. Bien qu'il ne s'agisse pas d'un essai randomisé et que l'effectif en soit réduit (43 patients dont seulement 28 lymphomes non hodgkiniens), le taux de survie sans progression de 72 % à trois ans est encourageant et justifie une étude randomisée [97].

Bien que l'autogreffe soit considérée comme le standard de traitement des lymphomes de Hodgkin en rechute ou réfractaires [98], on ne dispose pas de preuves convaincantes d'un bénéfice de survie globale. Une revue systématique de la littérature n'a recensé que trois essais randomisés [99].

Deux d'entre eux (1993 et 2002) ont conclu à un bénéfice de survie sans progression, aucun n'a montré de bénéfice significatif de survie globale. Le facteur pronostique le plus important est le statut avant la greffe : les résultats sont très significativement meilleurs chez les patients en réponse complète métabolique.

La question se pose de la place du brentuximab vedotin, anticorps anti-CD30 couplé à une toxine inhibitrice de la tubuline, la monométhyl-auristatine E. Avant l'autogreffe, le

brentuximabvedotin permet d'obtenir des réponses chez des patients réfractaires

à une chimiothérapie de rattrapage comportant des sels de platine, permettant de réaliser l'autogreffe dans une situation plus favorable [100].

Après l'autogreffe chez des patients à haut risque (lymphome de Hodgkin réfractaire, rechute à moins de 12 mois, localisation extraganglionnaires), le brentuximabvedotin prolonge la durée de survie sans rechute et la survie globale [101].

Enfin, dans les rechutes après autogreffe, le brentuximabvedotin permet d'obtenir une réponse dans plus de deux tiers des cas, permettant de conduire les patients à l'allogreffe [102].

Si la place de l'autogreffe est établie dans le lymphome de Hodgkin (cf. supra), l'avènement du brentuximabvedotin a sensiblement changé la stratégie, avec son positionnement à la fois en pré- et post-autogreffe.

Dans le lymphome du manteau, l'autogreffe constitue un standard de première ligne pour les patients jeunes, après une chimiothérapie comportant cytarabine et cisplatine (R-DHAP) en alternance ou non avec du rituximab, cyclophosphamide, doxorubicine, vincristine, prednisone (R-CHOP) [103,104].

Cette stratégie agressive de première ligne ne permet néanmoins pas d'obtenir une guérison définitive. Les résultats de l'étude LYMA [105] ont démontré le bénéfice en termes de survie sans progression d'un traitement d'entretien par rituximab après l'intensification.

L'autogreffe a pu être proposée aussi dans les lymphomes folliculaires, qui demeurent incurables avec les approches de chimiothérapie classique. En première ligne thérapeutique, trois méta-analyses [106,107] sont parvenues aux mêmes conclusions, à savoir l'absence d'amélioration de la survie globale, mais une amélioration de la survie sans événement avec l'autogreffe, sans différence dans le risque de mortalité ou de morbidité à court ou long terme.

Ces résultats sont néanmoins en partie contredits par une étude de 2014 non randomisée comparant les résultats d'une autogreffe en première ou deuxième ligne à ceux d'une intensification plus tardive. À sept ans, les taux de survie globale et de survie sans progression sont pour l'intensification précoce respectivement de 76 % et 60 %. Mesurée à partir

du diagnostic, la survie globale se révèle significativement supérieure à celle de l'intensification plus tardive ($p = 0,03$) [108].

De plus, cette publication démontre l'atteinte d'un plateau de survie sans progression après 9,3 ans pour les patients greffés en première ligne et 6,4 ans pour ceux greffés en deuxième ligne, suggérant un effet curatif de la procédure pour une partie des patients. Ces données corroborent les conclusions de l'étude de Metzner et al., montrant l'absence de rechute au-delà de six ans après l'autogreffe [109].

L'impact du conditionnement par irradiation corporelle totale par rapport à une chimiothérapie de type BEAM a été évalué dans une étude rétrospective de l'EBMT, qui a conclu à un certain avantage en termes de survie sans rechute en faveur de l'irradiation corporelle totale, sans différence de survie globale [110].

Bien qu'elle porte sur un effectif restreint de 24 patients, traités en première ligne, et ne soit pas randomisée, l'étude de Derenzini et al. est intéressante du fait d'un suivi médian qui atteint dix ans [111].

La chimiothérapie initiale était une approche séquentielle utilisant R-CHOP en alternance avec rituximab-fludarabine-mitoxantrone (R-FM), dans le but d'améliorer la réponse prégreffe, et le conditionnement était le schéma classique BEAM. Le taux de survie sans progression à dix ans atteint 70 %, mais il n'est pas possible de déterminer si ces bons résultats sont dus à la chimiothérapie séquentielle R-CHOP/R-FM ou à l'intensification.

Qu'en est-il de l'autogreffe en situation de rechute ? L'étude du GELA montre une amélioration importante de la survie après autogreffe comparée à une chimiothérapie classique [112].

Comme pour les autres pathologies lymphoïdes, le degré de réponse évalué par la tomographie à émission de positons (TEP)-scan avant autogreffe a une forte valeur prédictive de la survie sans progression [113].

Après l'autogreffe, un traitement d'entretien par rituximab prolonge la survie sans progression mais non la survie globale [114].

L'approche de type « greffe en tandem », où la greffe autologue est suivie d'une greffe allogénique à conditionnement d'intensité réduite, paraît plus intéressante encore. Elle permet d'obtenir un taux de survie globale et de survie sans progression de 96 % à trois ans [115].

Pour les lymphomes folliculaires transformés, une approche thérapeutique analogue à celle des rechutes des lymphomes de haut grade semble intuitivement pertinente. Deux études plaident en faveur de cette attitude [116,117], avec peut-être de moins bons résultats pour les patients traités par rituximab antérieurement, ce qui est évidemment maintenant la situation la plus fréquente. Néanmoins, l'arrivée des nouvelles substances actives dans les lymphomes folliculaires, notamment les inhibiteurs de BTK, de la PI3 kinase et de Bcl-2, laisse prévoir des modifications drastiques de la prise en charge de ces pathologies, avec potentiellement des stratégies thérapeutiques leur associant une intensification.

d. Leucémies

d.1. Leucémies aiguës myéloïdes

L'autogreffe de CSH est possible dans les leucémies aiguës myéloïdes, elle est même considérée par l'EBMT comme une référence dans les LAM de risque intermédiaire [41].

La justification de cette approche est le fort taux de rechute après chimiothérapie, notamment chez les sujets âgés (> 60 ans) pour qui l'allogreffe, techniquement possible, comporte néanmoins un risque majeur. Un essai déjà ancien du groupe EORTC-GIMEMA a inclus 941 patients, d'âge compris entre 10 et 45 ans (en pratique, supérieur à 15 ans) [118].

En fonction de la disponibilité ou non d'un donneur intrafamilial, les patients bénéficiaient d'une allogreffe ou étaient traités (selon le centre) soit par chimiothérapie intensive (104 patients), soit par autogreffe de cellules souches obtenues par prélèvement médullaire (95 patients). Le taux de survie sans maladie projeté à quatre ans a été de 48 % dans le bras autogreffe contre 30 % dans le bras chimiothérapie intensive, sans que cela ne se traduise par un gain de survie car

Les patients rechutant dans le bras chimiothérapie intensive avaient une meilleure réponse à la deuxième ligne de traitement, incluant l'autogreffe, que les patients traités en première intention par autogreffe. L'essai du groupe EORTC-GIMEMA AML-13 s'est attaché à la population des patients d'âge compris entre 61 et 70 ans, avec un indice OMS 0-1 [118].

Cet essai a montré la relative faisabilité de l'autogreffe (cellules souches périphériques) avec, sur les 61 patients éligibles, 35 patients effectivement greffés. Les durées médianes de survie sans maladie et de survie globale étaient de 1,1 et 1,6 ans, et les taux à trois ans de survie sans maladie et de survie globale de 28 % et 39 %, respectivement, sans différence par rapport aux autres patients inclus dans cet essai pour lesquels les centres participants avaient fait le choix d'une chimiothérapie de consolidation conventionnelle. L'essai randomisé MRC AML 10a porté sur des patients de moins de 56 ans (sans limite d'âge inférieure) en rémission mais sans donneur allogénique [119].

Si on limite l'analyse aux patients de 35 ans ou plus (89 patients dans le bras autogreffe versus 80 dans le bras chimiothérapie intensive), on constate 31 rechutes dans le bras autogreffe contre 50 dans le bras chimiothérapie intensive. L'analyse des survies, notamment chez les patients de 35 ans ou plus, est statistiquement en faveur de l'autogreffe, les patients non autogreffés n'étant pas, contrairement à l'étude citée précédemment [117], remis plus facilement en rémission en cas de rechute. Une étude de registre publiée en 2013 à partir des données du *Center for International Blood and Marrow Transplantation Research* a comparé les résultats de l'allogreffe (moelle versus sang périphérique) à ceux de l'autogreffe avec cellules souches du sang périphérique [120].

Le taux de survie sans maladie à cinq ans était similaire (61 % et 54 % pour l'allogreffe versus 47 %), de même que le taux de survie globale (64 % et 59 % versus 54 %).

L'impact éventuel du profil cytogénétique et moléculaire est encore mal connu. Cette question a été abordée dans une étude rétrospective comparant les résultats de l'autogreffe à ceux d'une chimiothérapie intensive dans des LAM à caryotype normal avec FLT3ITD, à risque élevé de rechute précoce [121].

Le taux de survie sans maladie est plus favorable après autogreffe (40 % versus 10 % à 4 ans, $p = 0,05$) sans que cela ne se traduise par un avantage de survie globale (40 % versus 20 % à 4 ans, $p = 0,27$), mais le faible nombre de patients (11 pour l'autogreffe et dix pour la chimiothérapie) rend toute conclusion hasardeuse.

Des essais cliniques d'association autogreffe/immunothérapie ont été menés. Des résultats encourageants ont été rapportés avec une méthode d'immunothérapie cellulaire faisant appel à l'administration, avant l'autogreffe, de cellules leucémiques autologues associées à des cellules sécrétant du GM-CSF et des lymphocytes sensibilisés [122].

Chez les patients ayant développé une réponse immunitaire antileucémique, le taux de survie sans rechute rapporté est de 100 % à trois ans, mais il s'agit d'un essai non randomisé, avec 28 patients seulement ayant bénéficié du traitement pré-greffe.

Dans les LAM, différents types de conditionnements ont été testés, sans démonstration d'une supériorité de l'un ou l'autre des schémas. L'une des options de conditionnement les plus prometteuses consiste dans l'utilisation du busulfan par voie intraveineuse pour pallier la variabilité des taux circulants lors d'une prise per os [123].

Un des problèmes liés à l'autogreffe dans les LAM est la contamination potentielle du greffon. Les tentatives de purge du greffon se sont révélées toxiques in vitro et rendent sa prise délicate, même si des techniques de sélection positive des cellules CD34+ et/ou CD133+ permettent une décontamination du greffon d'un facteur 10^{-3} à 10^{-4} tout en préservant sa viabilité [124].

La contamination potentielle du greffon par les cellules souches leucémiques persiste, car il n'est pas possible de les distinguer aisément des cellules souches normales. L'utilisation de nouvelles substances ciblant des voies métaboliques sensibles dans les blastes leucémiques est néanmoins à l'étude.

Pour conclure sur les LAM, les résultats d'une méta-analyse récente [125] montrent une supériorité de l'autogreffe sur la chimiothérapie classique en termes de rechute, sans impact sur la survie globale, notamment à cause de la mortalité liée à la procédure. Les résultats restent

inférieurs à ceux de l'allogreffe, mais celle-ci reste inaccessible pour un nombre non négligeable de patients, faute de donneur compatible. Le conditionnement préalable à l'autogreffe doit être encore optimisé afin d'en diminuer encore la mortalité, déjà très faible grâce à l'utilisation de cellules mobilisées du sang périphérique, qui permet une reconstitution hématologique plus rapide que les cellules médullaires. Le conditionnement le plus adéquat doit certainement contenir du busulfan intraveineux [123].

Enfin, les rechutes très tardives (16 % à 10 ans) [126] observées chez les patients autogreffés montrent la persistance d'un contingent leucémique résiduel de faible importance après l'autogreffe.

Cela suggère l'utilisation d'un traitement d'entretien, par chimiothérapie ou immunothérapie, une réponse immune antileucémique ayant le temps de se développer dans ces délais. La diminution de la mortalité liée à la transplantation et le meilleur contrôle des rechutes, notamment tardives (purge du greffon, chimiothérapie d'entretien, immunothérapie post-greffe), devraient permettre un renouveau de l'autogreffe dans les LAM, qui reste néanmoins une procédure standard pour les LAM de risque intermédiaire en RC1 et une option envisageable dans les autres cas, si une allogreffe ne semble pas possible ou raisonnable [41].

d.2. Leucémies aiguës lymphoïdes

Selon les recommandations de l'EBMT, l'autogreffe n'a pas d'indication reconnue dans les leucémies aiguës lymphoïdes (LAL), en dehors d'éventuels protocoles expérimentaux. Une méta-analyse de 2013, correspondant à un total de 13 études et de 2962 patients, montre que l'autogreffe n'apporte pas de bénéfice dans les LAL Ph1- comparée à une chimiothérapie intensive, et pourrait même aggraver le pronostic [127].

Néanmoins, les données récentes sur la maladie résiduelle (*minimal residual disease* [MRD]) tendent à démontrer que les patients MRD-négatifs à la fin de la chimiothérapie d'induction ont un pronostic favorable qui n'est pas sensiblement amélioré par la greffe allogénique. Or, aucune étude de transplantation autologue n'a été effectuée en

ciblante cette population de patients à « faible risque » MRD-négatifs. Les LAL Ph1+ constituent un cas particulier : leur pronostic, considéré comme très péjoratif, a été bouleversé par l'utilisation des inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK). Une étude récente portant sur de petits effectifs (58 patients) a comparé la greffe autologue à la greffe allogénique après un traitement d'induction associant l'imatinib et une chimiothérapie [128], sans montrer de différence entre les deux groupes. Si le nombre de patients est trop faible pour pouvoir tirer des conclusions fermes, il est intéressant dans cette étude de noter que sur 13 greffons analysés, neuf étaient négatifs en *polymerase chain reaction* pour le transcrite bcr-abl, et les quatre autres faiblement positifs, suggérant une efficacité certaine de l'association des ITK à la chimiothérapie « classique » pour la purge in vivo du greffon.

e. Autres indications

e.1. Tumeurs solides

Les indications d'autogreffe de CSH hors hémopathies malignes représentent une fraction très faible de l'ensemble des autogreffes.

Elles relèvent dans la quasi-totalité des cas du domaine de la recherche clinique ou d'indications de prise en charge au cas par cas dans des situations particulières.

Dans le cancer du sein, une méta-analyse regroupant 14 études et 5747 patients a montré un effet positif de l'autogreffe en première ligne sur la survie sans maladie mais pas sur la survie globale, sauf dans une sous-population de patientes à haut risque [129].

Il importe cependant de souligner que les auteurs n'ont pas eu accès aux données individuelles des patientes, ce qui limite la portée de leurs conclusions. Une étude portant sur 1183 patientes à haut risque (plus de trois ganglions envahis) a fait état d'une médiane de survie sans maladie de 101 mois et de survie globale de 134 mois, suggérant, malgré l'absence de groupe témoin, un bénéfice de l'autogreffe en situation adjuvante par rapport à la chimiothérapie conventionnelle [130].

Bien entendu, les nouvelles molécules utilisées dans cette pathologie peuvent venir remettre en cause l'intérêt de ces analyses rétrospectives.

Dans les tumeurs à cellules germinales, l'autogreffe semble intéressante chez les patients réfractaires ou en rechute, avec un taux de survie globale à deux ans de 71 %, dans une série limitée de 17 patients [131].

Dans les tumeurs de l'ovaire, l'autogreffe avec conditionnement par melphalan n'apporte pas de bénéfice [132].

Néanmoins ces résultats pourraient être modifiés avec l'utilisation d'autres conditionnements, notamment par le topotécan [133].

Dans les tumeurs embryonnaires du système nerveux central de l'adulte, les données proviennent souvent d'observations isolées.

Une comparaison historique a néanmoins montré après rechute une survie globale médiane de 3,5 ans chez dix patients transplantés versus deux ans chez 13 patients traités par chimiothérapie conventionnelle [134].

Dans le cancer du poumon à petites cellules, les méta-analyses ne parviennent pas à déterminer la place de l'autogreffe, faute de séries suffisantes [135].

Enfin, bien que de nombreuses études aient été publiées dans les sarcomes des tissus mous, non-rhabdomyosarcomes [136] ou rhabdomyosarcomes [137], le nombre d'essais randomisés est faible, et il n'est pas possible de statuer sur l'utilité de l'autogreffe.

e.2. Affections auto-immunes

Dans ces pathologies, la base du raisonnement est que la chimiothérapie de conditionnement détruit les lymphocytes autoréactifs, avec une « remise à zéro » du système immunitaire.

Un essai de phase II de 2015 dans la sclérose en plaques a comparé une greffe autologue conditionnée par carmustine, cytarabine, étoposide et melphalan plus immunoglobulines antithymocytes contre un traitement par mitoxantrone [40] en se basant sur le nombre de lésions cérébrales détectables en T2 durant les quatre années suivant le traitement. Malgré un effectif

faible, l'autogreffe a réduit de 79 % le nombre de nouvelles lésions par rapport à la mitoxantrone. Un autre type de conditionnement lymphoablatif à faible intensité (cyclophosphamide 120 mg/kg) semble aussi intéressant, mais l'étude n'a porté que sur sept patients [138].

Parmi les pathologies digestives, la maladie de Crohn peut bénéficier de l'autogreffe dans certains cas, avec notamment une réponse rapide de la maladie à la chimiothérapie de conditionnement [139].

Les résultats de l'autogreffe de CSH sont intéressants dans le lupus érythémateux disséminé réfractaire aux thérapeutiques classiques, avec un taux de contrôle de la maladie à cinq ans de l'ordre de 50 % dans la majorité des études publiées (représentant environ 200 patients) [140].

Dans cette pathologie, l'autogreffe se heurte à des problèmes infectieux importants liés au terrain et se voit concurrencée par la greffe de cellules mésenchymateuses stromales, aux propriétés immunosuppressives. Dans la polyarthrite rhumatoïde, si un contrôle rapide de la maladie peut être obtenu, la disponibilité des nouvelles biothérapies met l'autogreffe de CSH au second plan [141].

Dans la sclérodémie, une étude récente a randomisé 156 patients entre autogreffe conditionnée par cyclophosphamide 200 mg/kg plus immunoglobulines antithymocytes contre un traitement par perfusion mensuelle de 750 mg/m² de cyclophosphamide pendant 12 mois [142].

Cette étude a montré une augmentation significative de la mortalité dans le groupe autogreffe au cours de la première année, malgré l'exclusion des patients à comorbidités importantes (10 % de décès versus 0 %), mais un modeste gain à long terme, ne permettant pas de positionner l'autogreffe comme un standard de traitement dans la sclérodémie. Au cours des cytopénies auto-immunes réfractaires, une réponse à l'autogreffe est observée dans 40 % des cas, mais ne persiste à long terme que chez un quart des patients [143].

En conclusion, l'autogreffe dans les pathologies auto-immunes a permis d'obtenir certains succès, mais au prix d'une morbidité non négligeable pour des résultats souvent transitoires. Aussi cette option thérapeutique n'est pas recommandable en dehors d'essais cliniques, d'autant

qu'elle est aussi concurrencée par les nouvelles biothérapies ainsi que par les techniques innovantes d'immunomodulation telles que la greffe de cellules mésenchymateuses stromales.

6. Suivi des patients autogreffés

Le suivi dans les suites immédiates de l'autogreffe est essentiellement centré sur la reconstitution hématologique et les problèmes infectieux. Une réévaluation tumorale est généralement effectuée 2 à 3 mois après l'autogreffe. Par la suite, le suivi dépend de la pathologie, avec néanmoins au minimum une visite annuelle dans le centre de référence de l'autogreffe. Le patient doit bénéficier en post-greffe d'un programme de vaccination car les taux d'anticorps spécifiques diminuent fortement après la greffe.

Il est donc recommandé d'effectuer les vaccinations en laissant un délai post-greffe d'au moins trois mois [144].

Le Tableau XVI récapitule les vaccinations recommandées et leur délai par rapport à la greffe (d'après [40]).

Tableau XVI : Programme de vaccination post-autogreffe.

Vaccin	Délai par rapport à la greffe
Antigrippal	3-6 mois
Pneumocoque	3-6 mois
Haemophilus influenzae	6-12 mois
Tétanos, diphtérie, coqueluche	6-12 mois
Méningocoque	6-12 mois
Poliomyélite (vaccin tué)	6-12 mois
Hépatite B	6-12 mois

Il faut noter que les vaccins vivants ne sont administrés que s'ils sont vraiment indispensables et après un délai d'au moins deux ans par rapport à la greffe.

Sur le long terme, les patients autogreffés présentent un risque accru de leucémies secondaires, de pathologies cardiovasculaires, de troubles endocriniens et métaboliques, ainsi que d'infections, justifiant un suivi spécialisé à minima annuel, même au-delà de cinq ans.

7. Complications de l'autogreffe

En plus de la toxicité directe des différentes chimiothérapies de conditionnement, les complications de l'autogreffe sont essentiellement dues aux infections, favorisées par la neutropénie profonde induite par le conditionnement et qui dure en général un peu plus d'une semaine. Les germes responsables sont souvent endogènes, tels qu'*Escherichia coli*. On peut également observer une diarrhée liée à *Clostridium difficile*, des infections fongiques, notamment à *Candida albicans*, mais aussi des infections liées à la présence d'une voie centrale, favorisées notamment par une alimentation parentérale. Une prophylaxie antifongique est habituellement administrée, moins souvent une prophylaxie antimicrobienne, dont l'efficacité n'est pas clairement établie [145].

Les complications liées à la chimiothérapie et à la période d'aplasie incluent alopécie, mucite, nausées et vomissements. Beaucoup plus rare que dans l'allogreffe, la maladie veino-occlusive du foie est une complication grave, qui se manifeste par une hépatomégalie douloureuse, un ictère et une rétention hydrique.

Des complications pulmonaires surviennent chez plus d'un quart des patients, pour moitié d'origine infectieuse. Les complications non infectieuses incluent l'oedème aigu du poumon (5 %), le syndrome de pneumonie idiopathique (1 %), les hémorragies diffuses alvéolaires (2 %), le syndrome de détresse respiratoire péri-prise du greffon (2,5 %) [146].

L'état pulmonaire du patient avant la greffe et les examens fonctionnels respiratoires pré-greffe (notamment la capacité de diffusion du monoxyde de carbone) sont des facteurs pronostiques du développement de ces complications [146].

L'ensemble de la procédure d'autogreffe est grevée d'un taux de mortalité précoce (dans les 100 premiers jours), de l'ordre d'un peu moins de 3 %.

La toxicité à moyen et long termes ne doit pas être négligée [147, 148]. En premier lieu, la stérilité, aussi bien chez l'homme que chez la femme, est d'observation très fréquente, notamment du fait de la chimiothérapie de conditionnement.

Dans ce contexte, des grossesses obtenues sans assistance médicale sont observées dans moins de 15 % des cas, amenant à proposer une congélation de sperme chez l'homme et un éventuel prélèvement d'ovocytes chez la femme. Chez les femmes récupérant un cycle menstruel, la ménopause précoce est quand même une complication fréquente. Un délai d'au moins deux ans après l'autogreffe est requis chez la femme avant une grossesse, délai correspondant à la période de risque maximal de rechute. Selon l'âge de la patiente, ce délai peut être repoussé à cinq ans par sécurité.

Lorsqu'il y a grossesse, celle-ci se déroule sans complication.

Même en excluant le risque de rechute, l'espérance de vie des patients ayant bénéficié d'une greffe autologue est inférieure à celle de la population générale, en raison de toxicités tardives, notamment cardiovasculaires.

Ces différentes complications ont amené à proposer un suivi particulier des patients ayant bénéficié d'une autogreffe, résumé dans le Tableau XVII (d'après [148]).

Les complications cardiovasculaires de l'autogreffe apparaissent le plus souvent plusieurs années après la procédure : insuffisance cardiaque, anomalies valvulaires ou de la conduction, liées à la cardiomyopathie due à la chimiothérapie conventionnelle et au conditionnement à la greffe. En plus des facteurs de risque classiques, les facteurs prédictifs de ce type de complications sont l'état antérieur du cœur, les doses cumulées d'anthracyclines, l'utilisation de la radiothérapie, la surcharge martiale liée aux transfusions répétées. En dehors de la maladie veino-occlusive ou d'éventuels épisodes d'infection et/ou réactivation virale, une atteinte hépatique peut être liée à l'hémochromatose post-transfusionnelle. Les complications rénales sont liées à l'usage pré-transplantation d'agents néphrotoxiques, notamment de sels de platine, et de la radiothérapie, avec des atteintes glomérulaires, ainsi qu'à l'utilisation d'antibiotiques et antifongiques néphrotoxiques à l'origine d'une atteinte plutôt tubulaire.

L'une des complications les plus graves de l'autogreffe est le développement de cancers secondaires. Les cancers radio-induits (sarcomes, thyroïde, sein) sont peu augmentés par l'autogreffe, en raison de la faible utilisation de la radiothérapie, mais plutôt liés aux traitements

antérieurs. Le risque essentiel dans l'autogreffe est celui de myélodysplasie et/ou de leucémie secondaire, dont le taux de survenue est de l'ordre de 5 %, avec un délai médian d'un peu plus de deux ans. Ce risque dépend bien entendu aussi de l'usage d'alkylants et de la radiothérapie avant la greffe. Le pronostic des leucémies secondaires est lié au caryotype, malheureusement bien souvent défavorable dans ce contexte.

Tableau XVII: Recommandations pour le suivi de greffe

Immunité anti-infectieuse	Propylaxie anti-Pneumocystis carinii pendant 6 mois Vaccinations
Examen ophtalmologique	Annuel
Etat buccodentaire	Evaluation annuelle
Pneumologie	Arrêt du tabagisme Evaluation clinique annuelle
Cardiovasculaire	Examen clinique annuel Hygiène cardiovasculaire Activité physique adaptée Surveillance annuelle de la tension artérielle
Fonction hépatique	Bilirubine/transaminases/ferritine tous les 6 mois la première année
Fonction rénale	Urée/créatinine/protéinurie annuelles
Squelette	Densitométrie osseuse si facteur de risque, suivi en fonction de cette première évaluation
Neurologie	Examen clinique annuel + fonctions cognitives
Endocrine	Bilan thyroïdien annuel
Etat muqueux et cutané	Examen dermatologique annuel Conseils vis-à-vis de l'exposition solaire Examen gynécologique annuel
Psychosocial	Evaluation annuelle de l'insertion professionnelle/sociale et des fonctions sexuelles
Cancers secondaires	Dépistage clinique orienté

IV. Allogreffe de CSH :

1. Introduction :

L'allogreffe des cellules souches hématopoïétiques (CSH) constitue un traitement curatif dans les hémopathies malignes et dans certaines maladies non malignes de la moelle osseuse ou du

système immunitaire (aplasies médullaires, hémoglobinopathies, déficits immunitaires congénitaux). Dans les hémopathies malignes, l'allogreffe a pour but d'éradiquer une maladie maligne clonale. Dans les autres cas, il s'agit schématiquement de remplacer une moelle malade par une moelle fonctionnelle.

La réalisation d'une allogreffe implique l'administration au receveur d'un conditionnement qui permet :

- l'immunosuppression de l'hôte nécessaire à la « prise » du greffon et à la prévention du rejet de greffe ;
- la destruction des cellules hématopoïétiques de l'hôte, visant à supprimer un éventuel clone malin. Ce deuxième objectif est assuré par le conditionnement, de façon variable en fonction de son intensité.

Cette première étape est suivie de l'administration du greffon qui peut provenir de trois sources : moelle osseuse, cellules souches périphériques (CSP) mobilisées par exemple par le *granulocyte-colony stimulating factor* (G-CSF) chez le donneur, ou unité(s) de sang placentaire(s) (USP). Ces greffons peuvent provenir de donneurs apparentés ou non apparentés.

La greffe de CSH peut s'accompagner de réactions immunologiques dues à la disparité d'histocompatibilité entre le donneur et le receveur : il s'agit principalement de la réaction du greffon contre l'hôte (maladie du greffon contre l'hôte - *graft versus host disease* [GVHD]) et du rejet de greffe (*host versus graft*[HVG]). Dans des conditions habituelles de greffe, la fréquence de la GVHD est bien plus élevée que celle de l'HVG. La GVHD est due à la reconnaissance d'allo-antigènes (majeurs ou mineurs d'histocompatibilité) du receveur par les lymphocytes T du donneur. Si l'activation de ces lymphocytes peut provoquer des réactions délétères de certains organes cibles du receveur, elle peut aussi être responsable de la reconnaissance et de la destruction des cellules tumorales résiduelles du receveur (effet du greffon contre la leucémie - *graft versus leukemia* [GVL]). C'est cet effet qui justifie la réalisation d'allogreffes de CSH dans les hémopathies malignes.

Le choix des modalités de greffe, c'est-à-dire le type de conditionnement et de prévention de la GVHD, la source du greffon et la sélection du donneur, dépend de la pathologie du receveur, de son âge, de ses éventuelles comorbidités et du type de greffon. L'intérêt et les limites des différentes modalités de greffe vont être développées ci-dessous, ainsi que les complications possibles des allogreffes de CSH.

2. Principes et méthodes

2.1. Conditionnement de greffe :

Le conditionnement joue un rôle essentiel dans l'allogreffe de CSH. Il a pour but d'assurer une immunosuppression du receveur suffisante pour permettre la prise de greffe et prévenir le rejet de greffe. Il doit aussi, à un degré variable, détruire les cellules tumorales du receveur.

Les premiers conditionnements utilisés sont actuellement qualifiés de myéloablatifs, c'est-à-dire qu'ils sont responsables d'une destruction supposée définitive des CSH du receveur. Ce type de conditionnement entraîne une morbidité et une mortalité certaine dont l'incidence augmente avec l'âge et les comorbidités du receveur. Outre ces greffes à conditionnements myéloablatifs sont apparues depuis bientôt 15 ans des greffes à conditionnements réduits ou greffes à conditionnements non myéloablatifs. La notion de conditionnement non myéloablatif repose sur les principes suivants :

- l'effet antitumoral observé après l'allogreffe est plus en rapport avec l'effet GVL qu'avec le conditionnement chimiothérapie plus ou moins radiothérapique ;
- la destruction de la moelle du receveur par le conditionnement n'est pas indispensable à la prise de greffe.

La prise de greffe peut être assurée par les lymphocytes alloréactifs du donneur, qui détruisent progressivement les cellules du système immunitaire du receveur et permettent l'installation progressive de l'hématopoïèse de donneur. Pendant les premières semaines

postgreffe, il existe un état de chimérisme mixte (coexistence de cellules hématopoïétiques du donneur et du receveur) jusqu'au remplacement complet de l'hématopoïèse du receveur par celle du donneur.

Selon ce principe, le conditionnement a pour fonction principale de prévenir le rejet de greffe en détruisant le système immunitaire du receveur. Ce conditionnement doit, de ce fait, être plus immunosuppresseur que myélotoxique. L'allègement du conditionnement devrait s'accompagner d'une diminution de la fréquence de la GVHD (cf. sous-chapitre « Réaction du greffon contre l'hôte »). L'immunosuppression postgreffe, utilisée pour prévenir la GVHD peut contribuer à prévenir l'HVG. Les conditionnements non myéloablatifs ont pour avantage une moindre toxicité extra-hématologique. Ils peuvent, de ce fait, être proposés à des patients plus âgés et à des patients fragiles chez lesquels un conditionnement myéloablatif est contre-indiqué [149,150].

Il est habituellement admis que la limite d'âge pour la réalisation d'une greffe à conditionnement myéloablatif est environ 50 ou 55 ans alors qu'elle atteint 65 ans et parfois plus dans les greffes à conditionnement réduit. Il existe actuellement un développement très important des greffes à conditionnement réduit, principalement dans les pathologies des sujets âgés telles que le myélome, les syndromes lymphoprolifératifs de bas grade de malignité et les syndromes myélodysplasiques. Il est difficile de comparer les résultats des greffes à conditionnement myéloablatif de celles à conditionnement réduit, ces dernières étant habituellement réalisées chez les patients présentant une contre-indication à la réalisation d'une greffe à conditionnement myéloablatif. Les études rétrospectives semblent montrer que si la toxicité est moins importante dans les greffes à conditionnement réduit, l'incidence de rechute est probablement supérieure.

a. Conditionnement myéloablatif

Le conditionnement myéloablatif entraîne la destruction des cellules hématopoïétiques de l'hôte et la vacuité médullaire hématologique. Il assure à la fois la réduction de la maladie, maligne ou non, pour laquelle la greffe est réalisée, et l'immunosuppression de l'hôte nécessaire

à la prise du greffon. Ce conditionnement est ainsi à la fois immunosuppresseur et myélotoxique. La soumission à ces impératifs n'a pas la même importance selon les indications de la greffe : à titre d'exemple, un conditionnement de greffe pour aplasie médullaire a pour principal objectif l'immunosuppression du receveur, alors que, pour une hémopathie maligne, il doit être à la fois antitumoral et immunosuppresseur.

b. Techniques

Irradiation corporelle totale. Le choix des paramètres d'irradiation (la dose totale, le nombre de fractions et le débit de dose) peut avoir des conséquences sur l'efficacité de l'irradiation corporelle totale (ICT) en termes de réduction tumorale, de pouvoir immunosuppresseur et d'action sur les cellules médullaires non tumorales. L'ICT peut être réalisée en dose unique ou fractionnée. Dans le premier cas, la dose totale est en général de 10 Gy, délivrée en une seule fois avec un débit de dose bas. Le problème posé par l'ICT en une seule fraction est celui de sa tolérance immédiate et surtout à long terme. Les effets secondaires, survenant dans les semaines, les mois ou les années qui suivent la greffe, sont les pneumopathies interstitielles, la maladie veino-occlusive du foie, la cataracte et les troubles endocriniens. Le fractionnement de la dose est un moyen d'obtenir une meilleure réparation des lésions sublétales dans les tissus sains, notamment le poumon. Plusieurs schémas sont utilisés, la dose totale étant généralement de l'ordre de 12 Gy, le plus souvent délivrée en six fractions de 2 Gy sur 3 jours [151,152]. De nombreux essais non contrôlés semblent confirmer l'effet bénéfique du fractionnement sur le risque de pneumopathie interstitielle. Le risque de maladie veino-occlusive paraît également diminué par ce schéma d'irradiation, de même que les effets secondaires à moyen ou à long terme.

Chimiothérapie. Plusieurs types de chimiothérapie peuvent être utilisés dans le conditionnement à l'allogreffe. La grande majorité des conditionnements associe un ou plusieurs agents de chimiothérapie à une ICT ou à du busulfan. Les deux conditionnements de greffe les plus classiques associent une ICT à du cyclophosphamide (Endoxan®) pour l'un et du busulfan à

du cyclophosphamide pour l'autre. Ces conditionnements peuvent être renforcés pour augmenter l'effet antitumoral dans les hémopathies à grand risque de rechute (ajout d'étoposide dans les leucémies aiguës lymphoïdes) ou pour diminuer le risque de non-prise dans les greffes non totalement HLA identiques (ajout de sérum antilymphocytaire).

c. Indications

Hémopathies malignes. Le conditionnement de référence a longtemps été constitué par l'association d'une ICT délivrée en dose unique à 10 Gy et de cyclophosphamide (60 mg/kg pendant 2 jours) [153]. De nombreuses modulations sont ensuite intervenues pour diminuer la toxicité (en particulier pulmonaire et hépatique) de cette association radiochimiothérapique ou augmenter son activité antileucémique. Ces deux impératifs sont souvent contradictoires. En outre, des tentatives intéressantes ont été réalisées, qui visent à substituer le busulfan à forte dose à l'ICT.

Conditionnement avec irradiation corporelle totale. Outre l'association classique de l'ICT et du cyclophosphamide, d'autres schémas sont utilisés :

- cytarabine (Ara-C) à forte dose plus ICT ;
- Ara-C à forte dose plus ICT plus melphalan ;
- ICT plus étoposide ;
- ICT plus étoposide plus cyclophosphamide ;
- ICT plus melphalan.

Les avantages théoriques d'un conditionnement avec ICT par rapport à un conditionnement purement chimiothérapique restent :

- la meilleure immunodépression ;
- l'atteinte de toutes les cellules tumorales en phase G0 ;
- l'éradication tumorale des sanctuaires ;
- la possibilité de moduler les doses délivrées dans certains organes que l'on souhaite protéger (du fait du risque de toxicité) ou que l'on souhaite irradier à

plus fortes doses (du fait du risque de rechute).

Conditionnement sans irradiation corporelle totale. La lourdeur, les contraintes et les complications de l'ICT ont incité certaines équipes à utiliser des conditionnements sans irradiation. Le busulfan, à la dose habituelle de 16 mg/kg chez l'adulte pour la forme orale et de 12,8 mg/kg pour la forme intraveineuse (i.v.), est alors, le plus souvent associé au cyclophosphamide à la dose de 120 ou 200 mg/kg [154,155]. Dans les leucémies myéloïdes chroniques, les résultats sont peu différents de ceux rapportés avec une association de cyclophosphamide et d'une ICT [156]. En revanche, plusieurs études comparant un conditionnement par busulfan et cyclophosphamide à un conditionnement par cyclophosphamide et ICT, chez des patients atteints de leucémie aiguë, ont montré une mortalité liée à la greffe plus importante chez les patients conditionnés par busulfan [157,158, 159]. De plus, une étude a rapporté une incidence élevée de rejet dans les greffes non apparentées conditionnées par busulfan.

Outre la chimiothérapie et la radiothérapie, les conditionnements de greffe peuvent aussi comporter des anticorps monoclonaux ou des immunotoxines.

Le choix du conditionnement doit prendre en compte deux risques : celui de la toxicité (immédiate ou retardée) et celui de la rechute. C'est en fonction de l'état des malades (âge, état général, comorbidités) et de l'hémopathie elle-même (haut risque de rechute ou non) que ce choix est fait. Chez le jeune enfant, l'association cyclophosphamide-busulfan paraît séduisante, car elle est supposée diminuer les séquelles endocriniennes observées après ICT.

Aplasies médullaires sévères. Dans les aplasies médullaires, le conditionnement a pour objectif l'immunosuppression. Chez les patients non immunisés avant la greffe, ce conditionnement peut comporter le cyclophosphamide seul (50 mg/kg pendant 04 jours) ou une association de cyclophosphamide et de sérum antilymphocytaire [160]. L'adjonction d'une irradiation lymphoïde totale (TLI) peut se discuter chez les malades à haut risque de non-prise.

Dans le cas particulier de la maladie de Fanconi, compte tenu de la fragilité chromosomique, les doses de chimiothérapie du conditionnement doivent être réduites.

Problèmes particuliers : greffes non HLA-identiques et greffes déplétées en lymphocytes

T. Toute greffe non strictement HLA-identique entraîne, outre un risque élevé de GVHD, un risque accru de non-prise et de rejet. Le risque de non-prise et de rejet est également important après les greffes déplétées en lymphocytes T. Ce risque justifie l'utilisation de conditionnements plus myéloablatifs et surtout plus immunosuppresseurs (comportant du sérum antilymphocytaire, de la fludarabine ou des anticorps monoclonaux anti-T).

d. Conditionnement d'intensité réduite

La faisabilité d'allogreffes à conditionnement d'intensité réduite (CIR) a initialement été démontrée dans des modèles animaux [161]. Des modèles murins ont montré l'intérêt de la fludarabine dans ce type de conditionnement : cette molécule est dotée d'un très fort potentiel immunosuppresseur avec une toxicité extrahématologique réduite [162]. La première série de greffes à CIR a été rapportée par Slavin en 1998 [150] ; le conditionnement associait de la fludarabine, du sérum antilymphocytaire et du busulfan à dose réduite par rapport aux conditionnements myéloablatifs. Cette première série a montré la faisabilité de ce type d'approche chez l'homme, en particulier en termes de prise de greffe. Depuis, la greffe à CIR a connu un essor considérable et différents types de conditionnements ont été évalués. Certains d'entre eux sont non myéloablatifs (ICT à 2 Gy + fludarabine), alors que d'autres comportent un certain degré de myéloablation (Fig. 1) [150, 163-166].

La plupart de ces conditionnements ont en commun l'utilisation d'immunosuppresseurs puissants (la fludarabine, le sérum antilymphocytaire, le mycophénolate mofétil) associés à des doses plus ou moins myéloablatives de chimiothérapie (busulfan, cytarabine, cyclophosphamide) ou de faibles doses d'ICT. À ce jour, aucun de ces conditionnements n'a montré sa supériorité par rapport à un autre.

2.2. Différents types de greffons

Un greffon de CSH allogénique peut provenir de trois sources : moelle, sang périphérique

ou sang placentaire.

En 2007, 15 % des allogreffes en France ont été réalisées à partir de sang placentaire, 33 % à partir de moelle osseuse et 52 % de cellules souches périphériques.

a. Greffon médullaire

Lors d'un prélèvement médullaire, le donneur est ponctionné, sous anesthésie générale, dans les crêtes iliaques postérieures et, si besoin, dans les crêtes iliaques antérieures et le sternum. En cours de prélèvement, un compte des cellules nucléées sur échantillon permet de calculer un volume à prélever pour assurer un minimum de 3×10^8 cellules nucléées/kg de poids de receveur.

La moelle est ensuite transfusée au receveur qui a reçu le conditionnement de greffe, si besoin après séparation des hématies ou déplasmatisation s'il existe une compatibilité ABO entre le donneur et le receveur, ou manipulation immunologique du greffon.

b. Greffon de cellules souches périphériques

Dès l'apparition, au début des années 1990, des facteurs de croissance hématopoïétiques recombinants (G-CSF) permettant la mobilisation dans le sang des CSH et leur recueil par cytophérèse, cette technique a très rapidement remplacé le prélèvement médullaire pour les autogreffes. En revanche, le recueil de cellules souches périphériques pour la réalisation d'allogreffes ne s'est développé que beaucoup plus lentement. Cependant, depuis les années 2000, la majorité des allogreffes sont réalisées en France à partir de greffons de CSP, et cette source de cellules souches hématopoïétiques est utilisée pour environ 80 % des allogreffes en Amérique du Nord.

Les raisons pour lesquelles l'utilisation de greffons de CSP s'est répandue lentement en situation allogénique sont schématiquement de deux ordres : d'une part, l'administration d'un facteur de croissance recombinant à un donneur sain posait le problème d'éventuelles conséquences pour la santé du donneur ; d'autre part, les importantes quantités de lymphocytes

T contenues dans les greffons de CSP faisaient craindre un risque élevé de GVHD chez le receveur. Inversement, le prélèvement et l'administration d'un nombre de cellules souches plus important que lors d'un prélèvement médullaire permettent une reconstitution hématopoïétique plus rapide et une diminution du risque de non-prise, élément particulièrement important dans les greffes à CIR.

Au total, malgré les avantages évidents des greffons de CSP en termes de facilité de recueil et de raccourcissement de l'aplasie, le rapport bénéfices-risques de leur emploi a dû faire l'objet d'études. Ce rapport reste à évaluer précisément au cas par cas, et seul le développement très rapide des greffes à conditionnement non myéloablatif a finalement conduit à la banalisation des greffons de CSP dans le contexte de la greffe allogénique.

Les techniques utilisées pour la constitution d'un greffon de CSP - mobilisation des CSH par le G-CSF puis recueil par cytophérèse - expliquent les différences quantitatives et qualitatives qui existent entre le contenu cellulaire d'un greffon de moelle et celui d'un greffon de CSP. D'une part, le G-CSF modifie qualitativement certaines cellules de la réponse immunitaire, d'autre part, les cytophérèses permettent de recueillir un plus grand nombre de cellules (cellules souches CD34+, lymphocytes, monocytes) que lors d'un prélèvement médullaire. Le nombre de cellules CD34+ injectées par kg de receveur est multiplié, en moyenne, par un facteur de 3 à 6 dans un greffon de CSP par rapport à un greffon médullaire et le nombre de lymphocytes T par 10 environ. Il existe un intérêt certain à l'utilisation d'un greffon très riche en cellules souches CD34+ pour les greffes comportant un risque accru d'HVG, telles que les greffes à conditionnements non myéloablatifs, les greffes déplétées en lymphocytes T et les greffes en situation partiellement HLA-ncompatibles.

b.1. Allogreffe de cellules souches périphériques après un conditionnement myéloablatif

À partir de 1995, des études pilotes réalisées aux États-Unis et en Europe ont démontré la faisabilité des allogreffes de CSP, en particulier l'absence d'augmentation majeure de l'incidence des GVHD aiguës [167]. Par la suite, d'autres études ont comparé rétrospectivement,

puis prospectivement la moelle et les CSP.

Les questions posées concernaient l'intérêt des CSP pour la rapidité de reconstitution hématopoïétique, mais surtout l'impact de ce type de greffon sur l'incidence de la GVHD aiguë et chronique, la rechute et la survie. Plusieurs études prospectives ont randomisé l'utilisation d'un greffon médullaire ou de CSP dans des greffes familiales HLA-identiques, après unconditionnement myéloablatif [168-171]. Si toutes s'accordent pour conclure à une reconstitution hématopoïétique plus rapide avec les CSP, leur impact sur la GVHD aiguë ou chronique, la rechute et la survie est plus difficile à définir. Schématiquement, la majorité de ces études ne montre pas d'augmentation évidente de l'incidence de la GVHD aiguë avec les CSP, mais une tendance à une augmentation de la GVHD chronique, même si les conclusions sont parfois sujettes à caution du fait du nombre limité de patients inclus [172]. Une méta-analyse portant sur 1 111 patients inclus dans neuf de ces essais prospectifs a permis de comparer les greffes de CSP et de moelle osseuse dans une population bien plus large [173]. Cette étude conclut :

- à l'absence de différence significative pour l'incidence de la GVHD aiguë ;
- à l'augmentation importante de l'incidence de la GVHD chronique extensive avec les CSP, sans impact sur la mortalité liée à la greffe (Fig. 2).
- à la diminution significative du taux de rechutes après greffe de CSP, particulièrement chez les patients greffés à un stade avancé de leur hémopathie.

Au total, le taux de survies sans maladie est supérieur après allogreffe de CSP dans la population des patients à haut risque, mais pas dans celle des patients à risque standard. Compte tenu des conséquences de la GVHD chronique sur la qualité de vie, cette étude inciterait à privilégier les greffons médullaires chez les patients à risque standard et les greffons de CSP chez les patients à haut risque de rechute.

b.2. Allogreffe de cellules souches périphériques après des conditionnements d'intensité réduite :

Depuis la fin des années 1990, le concept de greffe à CIR s'est largement répandu. Dans ces nouveaux schémas, les cellules allo-réactives du greffon (essentiellement des lymphocytes T) se voient attribuer à la fois le rôle antitumoral et celui de la destruction de l'hématopoïèse normale de l'hôte que jouait auparavant le conditionnement classique. Le rôle propre du conditionnement est alors réduit au minimum : il s'agit seulement d'empêcher le rejet. Ce type de greffe comporte théoriquement un risque de non-prise supérieur à celui des greffes à conditionnement myéloablatif. L'usage de greffons de CSP permet de diminuer ce risque en augmentant à la fois le nombre de lymphocytes T injectés (qui jouent ici un rôle essentiel) et le nombre de cellules souches CD34+, ce qui permet de combattre l'HVG. Dans des modèles murins, il a en effet été établi depuis longtemps que le nombre de cellules allogéniques injectées jouait un rôle fondamental pour surmonter le rejet. Force est de constater que les arguments rationnels pour utiliser des CSP plutôt que de la moelle osseuse pour les greffes non myéloablatives sont apparus aux équipes cliniques concernées suffisamment convaincants pour se dispenser de toute étude comparative prospective des deux types de greffon.

b.3. Impact du contenu cellulaire des greffes de cellules souches périphériques sur les événements post-greffe :

Une relation entre la quantité de cellules CD34+ injectée et la durée d'aplasie granuleuse ou plaquettaire existe sans doute comme au cours des autogreffes, mais cet effet est de peu d'intérêt clinique dans la mesure où les plus petits greffons contiennent au minimum 4×10^6 CD34+/kg (quantité généralement considérée comme un objectif minimum à atteindre) et que cette quantité est largement suffisante pour assurer une sortie d'aplasie précoce. Dans ces conditions, le gain d'un ou deux jours apporté par les très gros greffons (jusqu'à 20×10^6 CD34+/kg), en terme de sortie d'aplasie granuleuse, est négligeable.

La GVHD, survenant après greffe de CSP, se distingue de celle observée après greffe de moelle à différents points de vue : l'incidence de la GVHD aiguë n'est pas accrue, malgré l'administration de

dix fois plus de lymphocytes T, contrairement à celle de la GVHD chronique, souvent extensive et résistante aux traitements immunosuppresseurs. Une autre particularité, actuellement mal expliquée, est la corrélation étonnante existant entre l'incidence de la GVHD et la dose de cellules CD34+ injectée, alors que la dose de lymphocytes injectée n'a pas d'impact [174-177].

Les explications avancées reposent sur l'analyse de l'effet du G-CSF sur les cellules de l'immunité : cette molécule entraîne la polarisation des lymphocytes vers un profil de sécrétion cytokinique de type Th-2 (interleukine 4 [IL4] et interleukine 10 [IL10]) [178]. Or, la GVHD aiguë est médiée par les lymphocytes Th-1 (sécrétant de l'IL2 et de l'interféron c), alors que la GVHD chronique est médiée par les lymphocytes Th-2. Ces travaux sont confortés par d'autres, montrant chez l'homme une réduction de la prolifération et de la cytotoxicité des lymphocytes T sous l'effet du G-CSF. Le G-CSF entraîne également une diminution de la production de cytokines pro-inflammatoires, la mobilisation de monocytes suppresseurs de l'alloréactivité des lymphocytes T [179], la mobilisation de cellules dendritiques de type DC-2 qui induisent une réponse T de type Th-2 [180], une diminution du nombre des progéniteurs « natural killer » (NK) et de leur cytotoxicité [181]. Ces résultats permettent de mieux comprendre les raisons pour lesquelles l'utilisation d'un greffon de CSP favorise la survenue d'une GVHD chronique plutôt qu'aiguë.

c. Greffe de sang placentaire :

c.1. Caractéristiques des greffons :

Le fondement rationnel des greffes de sang placentaire repose sur l'observation du fait que les cellules présentes dans la circulation du nouveau-né et du placenta sont riches en cellules souches hématopoïétiques.

La première greffe de sang placentaire a été effectuée à l'hôpital Saint-Louis à Paris en 1988, chez une enfant atteinte de maladie de Fanconi [182]. Réalisée à partir du sang placentaire d'une sœur HLA-identique prélevé à la naissance, elle a démontré la faisabilité d'une telle approche.

Il a été ensuite montré que les cellules contenues dans le sang placentaire (encore appelé « sang de cordon » par les Anglo-Saxons) possèdent certaines particularités par rapport aux

cellules d'un greffon médullaire. Elles présentent un plus grand potentiel de régénération et une moindre immunoréactivité, permettant de réduire les risques liés à l'incompatibilité HLA.

Cette seconde caractéristique permet la réalisation de greffes de sang placentaire en situation partiellement HLA-incompatible, c'est-à-dire permet de greffer des patients qui n'ont ni donneur familial ni donneur compatible dans les fichiers de donneurs non apparentés. Il a été ainsi montré qu'en situation non apparentée, un greffon de sang placentaire HLA-discordant (une ou deux discordances sur les six antigènes HLA-A, -B et -Dr) était une source possible de CSH pour une allogreffe chez l'enfant [183-185]. Cependant, la quantité restreinte de cellules souches contenues dans un greffon de sang placentaire a initialement limité quasi exclusivement l'utilisation de greffon de sang placentaire aux receveurs pédiatriques.

Depuis une dizaine d'années ont été créées des banques de sang placentaire pour les greffes non apparentées. Il existait en 2008 environ 350 000 unités de sang placentaire congelées dans le monde, et le nombre de greffes réalisées à cette date était estimé à plus de 10000.

Les résultats des greffes de sang placentaire dépendent de deux paramètres principaux : la quantité de cellules injectées et l'appariement HLA entre le donneur et le receveur. Ces facteurs ont un impact majeur sur la prise de greffe et l'incidence de la GVHD [184].

c.2. Avantages et inconvénients des greffes d'unité de sang placentaire par rapport aux greffes de donneur non apparenté :

L'utilisation d'USP comporte certains avantages :

- disponibilité rapide du greffon ;
- moindre exigence de compatibilité HLA ;
- diminution de l'incidence de la GVHD ;
- faible risque de transmission d'infections virales ;
- risque nul pour le donneur.

En revanche, les inconvénients sont les suivants :

- risque accru de non-prise ;

- reconstitution hématopoïétique plus lente ;
- impossibilité d'utiliser ultérieurement les cellules du donneur pour une immunothérapie complémentaire.

c.3. Résultats : comparaison des greffes de sang placentaire et des greffes de moelle à partir de donneurs non apparentés

Chez les enfants. Plusieurs études ont comparé rétrospectivement les greffes de sang placentaire et les greffes de moelle non apparentées HLA-identiques. Les résultats de ces études montrent :

- une reconstitution hématopoïétique plus lente dans les greffes de sang placentaire;
- une diminution de l'incidence de la GVHD ;
- des taux de rechutes, de mortalité à la greffe et de survie comparables.

La greffe de sang placentaire apparaît comme une alternative satisfaisante chez les enfants atteints d'hémopathies malignes et qui n'ont pas de donneurs HLA-identiques [185-187].

Chez les adultes. Trois études ont comparé, chez l'adulte, l'allogreffe de sang placentaire à l'allogreffe de moelle non apparentée (HLA-compatible ou avec une seule différence HLA).

Dans les trois études, la reconstitution hématopoïétique se révèle plus lente chez les patients greffés à partir d'USP. En revanche, les données sur l'incidence de GVHD et la survie sont discordantes [188-190].

Dans le but d'améliorer la probabilité de prise du greffon et de diminuer la durée d'aplasie et la mortalité précoce liée à la greffe, des modalités nouvelles de greffe de sang placentaire se développent : utilisation de deux USP de donneurs différents, ou de conditionnements d'intensité réduite [191, 192]. Les résultats publiés sont encourageants et permettent d'étendre largement les indications de greffe de sang placentaire aux patients adultes.

2.3. Choix du donneur

Si la majorité des allogreffes sont encore réalisées à partir de frères ou de soeurs HLA-identiques, on assiste, depuis le début des années 1990, à une augmentation importante du nombre de greffes réalisées à partir d'un donneur non apparenté ou à partir d'USP. En outre, les techniques de manipulation ex vivo du greffon permettent d'envisager des greffes à partir de donneurs non HLA-identiques.

a. Frère ou soeur géno-identique

Les gènes du système HLA étant codés par un même chromosome (le chromosome 6), chaque patient a 25 % de chances d'être HLA-identique avec un membre de sa fratrie. En l'absence de consanguinité, seuls les frères et soeurs peuvent être HLA identiques entre eux. Lorsqu'il existe dans la famille du patient un germain HLA-identique au receveur, ce donneur est choisi en priorité. S'il existe dans une fratrie plusieurs frères et sœurs HLA-identiques avec le patient, le donneur est choisi en fonction de son statut sérologique pour le cytomégalo virus (CMV) et des facteurs de risque de GVHD chez le receveur (cf. sous-chapitre consacré à la réaction du greffon contre l'hôte).

En France, compte tenu de la taille de la fratrie, 25 % à 30 % seulement des patients justiciables d'une allogreffe ont un donneur HLA-identique dans la fratrie.

b. Donneur non apparenté

Pour les patients qui n'ont pas de donneur familial HLA identique, une allogreffe peut être envisagée à partir d'un donneur non apparenté : les fichiers de donneurs volontaires comptaient, en 2008, environ 13 millions de donneurs. Cependant, les patients originaires de populations peu représentées dans les fichiers ont peu de chance de trouver un donneur. En 2007 en France, environ la moitié des allogreffes ont été réalisées à partir d'un donneur non apparenté.

Le pronostic des patients greffés à partir d'un donneur non apparenté dépend de la

compatibilité HLA entre donneur et receveur. En raison d'une compatibilité moins parfaite qu'en situation familiale (géo-identique), les greffes réalisées à partir d'un donneur non apparenté phéno-identique comportent classiquement un risque supérieur de GVHD et d'HVG. Cependant, les typages HLA de classe I (HLA-A, -B et -C) et de classe II (HLA-DR, -DQ, -DP) sont désormais réalisés par des techniques de biologie moléculaire de haute résolution. La généralisation de ces techniques permet un meilleur appariement entre donneur et receveur et une amélioration du taux de survie des patients [193].

En cas de greffe parfaitement appariée par des techniques de biologie moléculaire de haute résolution, le taux de survie sans maladie des patients semble comparable à celui observé après greffe géo-identique [194].

c. Donneur familial non HLA-identique : HLA-haplo-identique

Quarante pour cent des patients justiciables d'une allogreffe n'ont ni donneur familial ni apparenté HLA-compatible. Presque tous ont en revanche un donneur potentiel familial haplo-identique (identique sur un haplotype et différent sur l'autre) : parent, enfant, germain. Dans ce type de greffe, il existe un conflit immunologique majeur entre donneur et receveur. Ce conflit immunologique existe à la fois dans le sens HVG et dans le sens GVHD. Des travaux expérimentaux, déjà anciens, portant sur des modèles murins greffés en situation haplo-identique, ont établi que le nombre de CSH injectées était le paramètre essentiel de la prise de greffe : plus l'incompatibilité HLA est grande, plus la dose injectée doit être importante [195].

L'utilisation de greffons très riches en cellules souches permet maintenant d'assurer la prise de la greffe malgré une T-déplétion majeure nécessaire à la prévention de la GVHD. La pratique de telles greffes s'appuie sur trois grands principes [196] :

- un conditionnement alourdi et très fortement immunosuppresseur afin de combattre la réaction HVG ;

- une prévention de la réaction du greffon contre l'hôte par une T-déplétion la plus radicale possible du greffon ;
- une dose très élevée de cellules CD34+, provenant d'un greffon de CSP.

Si une telle approche prévient efficacement la GVHD et l'HVG, la déplétion radicale du greffon en lymphocytes T s'accompagne d'un profond déficit immunitaire postgreffe et d'un risque de rechute majoré, surtout dans les situations où le risque est élevé [196, 197]. C'est dans ce type de greffe, partiellement HLA-incompatible, qu'a été rapporté un effet antileucémique dû aux cellules NK du donneur (cf. infra).

La morbidité et la mortalité demeurent élevées : la maladie du greffon contre l'hôte (GVHD). Les lymphocytes T du donneur contenus dans le greffon :

- jouent un rôle important dans la prévention du rejet de greffe (HVG), en participant à la destruction du système immunitaire de l'hôte ;
- contribuent de façon significative à l'effet antitumoral associé à la greffe : l'effet du greffon contre la leucémie (GVL).

En outre, le transfert de cellules immunocompétentes du donneur permet la reconstitution postgreffe d'un système immunitaire chez le receveur.

3. Réactions immunologiques à l'allogreffe de cellules uchématopoïétiques

3.1. Réaction du greffon contre l'hôte (GVHD)

La GVHD est la conséquence d'interactions entre des antigènes allogéniques du receveur, présentés par ses cellules présentatrices d'antigènes, et les lymphocytes T matures du greffon.

C'est la complication la plus fréquente après allogreffe de CSP, première cause de mortalité postgreffe. La mortalité liée à la GVHD est non seulement due aux conséquences directes de cette réaction, mais surtout aux complications infectieuses favorisées par les

traitements immunosuppresseurs nécessaires pour la traiter. La GVHD est étroitement liée à la GVL ; l'absence totale de GVHD n'est donc pas forcément un objectif à atteindre après allogreffe pour hémopathie maligne.

a. Physiopathologie

Trois conditions sont nécessaires au développement d'une GVHD :

- le greffon doit contenir des cellules immunocompétentes ;
- l'hôte doit comporter, avec le donneur, des différences d'antigènes majeurs (antigènes HLA) ou mineurs d'histocompatibilité (peptides dérivés de protéines polymorphiques codées par des gènes non liés au complexe majeur d'histocompatibilité) capables d'être reconnus comme étrangers par le système immunitaire du donneur. En dehors de la situation très rare de greffes réalisées entre vrais jumeaux (greffes syngéniques), il existe toujours des différences pour les antigènes mineurs d'histocompatibilité entre le donneur et le receveur. Cela explique que, même en situation HLA identique, il existe un risque de GVHD ;
- l'hôte doit être suffisamment immunodéprimé pour être incapable de rejeter les cellules du donneur.

La physiopathologie de la GVHD est complexe et encore imparfaitement connue. Elle fait intervenir l'immunité cellulaire et humorale et des phénomènes inflammatoires, avec de nombreuses interactions entre ces différents types de réactions.

Deux faits sont importants à souligner :

- la GVHD n'est pas une réponse anormale du système immunitaire. Les lymphocytes du donneur ont un comportement approprié à l'environnement anormal dans lequel ils se trouvent ;
- les lymphocytes T contenus dans le greffon sont injectés dans un environnement altéré par :
 - la maladie sous-jacente ;

- les infections ;
- le conditionnement, responsables de phénomènes inflammatoires dans les endothéliums et les épithéliums.

Les phénomènes infectieux jouent un rôle important dans le déclenchement de la GVHD et expliquent que les organes cibles de cette réaction soient en particulier le tube digestif et la peau : il existe dans ces cas des endotoxines ou des bactéries responsables de phénomènes inflammatoires qui favorisent le développement de la GVHD.

b. Physiopathologie de la maladie du greffon contre l'hôte aiguë :

Les cellules du donneur s'activent non seulement vis-à-vis d'alloantigènes du receveur, mais aussi de manière non spécifique.

Cela aboutit à l'activation et la prolifération de cellules de l'inflammation, et à l'augmentation de l'expression de différentes molécules de surface, en particulier de molécules d'adhésion, de cytokines et de chimiokines [198]. La physiopathologie de la GVHD aiguë peut se décomposer en trois phases (Fig. 3).

Première phase : effet du conditionnement. La première phase débute avant la greffe, au moment du conditionnement.

Celui-ci est responsable de lésions tissulaires de l'épithélium et de l'endothélium, aboutissant à la sécrétion, par les cellules de l'hôte, de cytokines de l'inflammation (*tumor necrosis factor alpha* [TNF- α] et IL1) et de *granulocyte macrophage* (GM)-CSF. Les cytokines entraînent une surexpression des molécules d'adhésion et des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) responsables de la reconnaissance des antigènes mineurs ou majeurs de l'hôte par les cellules immunitaires du greffon [199]. La translocation des lipopolysaccharides (LPS) à travers la muqueuse intestinale active les cellules du système immunitaire et favorise la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires.

Le rôle du conditionnement dans l'initiation de la GVHD explique que la fréquence de la

GVHD augmente avec la lourdeur du conditionnement et que le risque de GVHD soit moins important après un conditionnement non myéloablatif ou lorsque les lymphocytes du donneur sont injectés à distance du conditionnement (après 30 à 45 jours).

Deuxième phase : activation des lymphocytes T du donneur.

L'activation des lymphocytes T du donneur inclut la présentation de l'antigène, l'activation propre des lymphocytes, leur prolifération et leur différenciation en cellules effectrices. Les alloantigènes sont présentés par les cellules présentatrices d'antigènes du receveur aux lymphocytes T du donneur. Avec le premier contact antigène/récepteur du lymphocyte T, les molécules de costimulation et d'adhésion jouent un rôle important dans le phénomène d'activation lymphocytaire. Ces phénomènes aboutissent à une transcription des gènes de l'IL2, de l'IL12, de l'IFN- γ , et de leurs récepteurs. Les cytokines produites en réponse à cette stimulation sont principalement de type Th1 (IFN- γ , IL2). Ces cytokines jouent un rôle central :

- dans l'activation, la prolifération et l'induction de la cytotoxicité T du donneur ;
- dans la réponse NK du donneur ;
- dans l'activation des cellules phagocytaires de l'hôte et du donneur, aboutissant à la sécrétion d'IL1 et de TNF- α .

La phase d'activation lymphocytaire T est suivie d'une phase d'expansion et de différenciation.

Parallèlement, les chimiokines jouent un rôle fondamental dans la GVHD, en induisant la migration des lymphocytes T vers les organes cibles. Elles interviennent à différentes étapes.

L'activation des lymphocytes T du donneur en réponse aux alloantigènes du receveur s'accompagne de l'expression à leur surface des récepteurs de chimiokines et de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires. Ces cytokines vont induire la production de chimiokines par le foie, la peau, les poumons, qui sont les organes cibles de la GVHD et secondairement la migration des lymphocytes T, exprimant leurs récepteurs depuis les organes lymphoïdes vers les organes cibles de la GVHD [200].

Troisième phase : effecteurs de la réaction. Il s'agit de la phase la plus complexe et la moins bien connue. Les lymphocytes T cytotoxiques ne sont probablement pas responsables de la totalité des atteintes tissulaires observées et, dans plusieurs modèles animaux, il a été montré que les cellules NK étaient également des effecteurs importants de la GVHD. Les lymphocytes T cytotoxiques et les cellules NK induisent l'apoptose des cellules cibles. Les cellules phagocytaires, stimulées soit par les cytokines de type Th1, soit par des LPS, libérés par les muqueuses intestinales de l'hôte lésées par le conditionnement, sécrètent des cytokines de l'inflammation (IL1 et TNF- α). Le TNF- α peut induire directement la nécrose des cellules cibles ou intervenir dans les phénomènes d'apoptose. En outre, le monoxyde d'azote (NO), produit par les macrophages activés, est également responsable de lésions des tissus cibles de la GVHD. La mort des cellules cibles fait intervenir trois mécanismes principaux : la voie granzyme-perforine, la voie Fas et de son ligand, et la toxicité directe des cytokines.

c. Physiopathologie de la maladie du greffon contre l'hôte chronique

Les mécanismes et la présentation clinique de la GVHD chronique se rapprochent de ceux de l'auto-immunité. Dans des modèles animaux, il a été montré que, si les lymphocytes T impliqués dans la GVHD aiguë étaient spécifiques d'alloantigènes, ceux impliqués dans la GVHD chronique pouvaient reconnaître des antigènes publics. Ces lymphocytes T produisent des cytokines de type Th2 : IL4 et IL10. Ces cytokines peuvent entre autres stimuler la production de collagène par les fibroblastes [201].

d. Classification

Traditionnellement, la définition de la GVHD aiguë et chronique était fondée sur sa date de début : avant 100 jours postgreffe pour la GVHD aiguë et après pour la GVHD chronique.

Depuis le développement des greffes à CIR et des greffes de CSP, cette définition est moins valide : certaines GVHD de début tardif se manifestent comme des GVHD aiguës ; à l'inverse, certains patients présentent avant j100 des manifestations évoquant une GVHD chronique. Une conférence de consensus du National Institutes of Health (NIH) américain a proposé une classification tenant compte à la fois des symptômes et de la date de début [202].

e. Réaction aiguë du greffon contre l'hôte : diagnostic et traitement

Après une greffe de moelle à conditionnement myéloablatif, la fréquence de la GVHD aiguë est maximale entre les deuxième et quatrième semaines postgreffe, mais elle peut se déclarer pendant les trois premiers mois qui suivent la greffe. Après une greffe de CSP et/ou à conditionnement d'intensité réduite, des manifestations de GVHD aiguë peuvent survenir après j100 postgreffe.

e.1. Manifestations cliniques

La peau, le foie et le tube digestif en sont les organes cibles.

L'atteinte cutanée, en général inaugurale, réalise un érythème morbilliforme parfois prurigineux, prédominant sur le visage, les faces d'extension des membres, le thorax, et surtout les paumes, les plantes et les régions rétro-auriculaires. Son évolution, souvent enrayée par le traitement, peut se faire vers la diffusion des lésions qui deviennent confluentes et pourpres. À un stade de plus peuvent apparaître, plus rarement, des décollements cutanés, d'abord localisés et provoqués (signe de Nikolsky), puis diffus et spontanés, réalisant une authentique épidermolyse (Fig. 4).

L'atteinte digestive se manifeste par une diarrhée subaiguë, d'intensité variable, parfois dysentérique, associée ou non à des douleurs abdominales. La surinfection, les hémorragies associées, la dénutrition peuvent mettre en jeu le pronostic vital.

L'atteinte hépatique, en règle plus tardive, est surtout biologique, associant à des degrés variables cytolysse et surtout cholestase, mais en règle sans insuffisance hépatocellulaire.

La classification de la GVHD aiguë est réalisée en fonction du nombre et de la sévérité des localisations de la maladie. Glucksberg, dès 1974, a publié la première classification, dans laquelle un score de 1 à 4 est donné à chaque organe en fonction de la sévérité de l'atteinte (Tableau 1), et le score global de I à IV tient compte de l'atteinte de l'ensemble des organes et de l'état général (Tableau 2). Il est classique de séparer les grades II-IV cliniquement significatifs et nécessitant un traitement, des grades I-II [203]. Plus récemment, l'International Bone Marrow Transplant (IBMTR) a proposé une autre classification également corrélée au pronostic (Tableau 3).

e.2. Diagnostic:

En fonction de la symptomatologie peuvent se discuter :

- les toxidermies ou les éruptions virales pour les atteintes cutanées ;
- les hépatites médicamenteuses ou virales, la maladie veino-occlusive hépatique, pour les atteintes hépatiques ;
- les diarrhées infectieuses pour les atteintes digestives.

Le diagnostic est orienté par l'association des symptômes et leur date de survenue.

Au plan histopathologique, les lésions cutanées ne sont typiques qu'à partir du 20^e jour après la greffe. Auparavant, elles sont difficiles à distinguer des lésions toxiques dues au conditionnement ou des lésions infectieuses. À partir du 20^e jour, les principales lésions sont composées de foyers de nécrose avec vacuolisation des cellules basales de l'épiderme, d'œdème et d'un infiltrat inflammatoire lymphocytaire du derme superficiel.

L'atteinte hépatique se traduit au début par des foyers de nécrose éosinophile, une dégénérescence des canaux biliaires, une hypertrophie des cellules de Küppfer et des infiltrats lymphocytaires péri-biliaires.

L'atteinte digestive se caractérise, sur le plan macroscopique, par une muqueuse inflammatoire, siège de lésions érosives, d'exsudats à tendance hémorragique. Anatomiquement, les lésions histologiques associent une atrophie villositaire, une nécrose cellulaire des cryptes, une infiltration lymphocytaire de la lamina propria évoluant vers la formation de micro-abcès, voire d'une nécrose complète focale ou diffuse de la couche muqueuse.

e.3. Incidence

Avec les techniques classiques de prévention de la GVHD, et selon les séries, 25 % à 75 % des patients allogreffés à partir d'un frère ou d'une sœur HLA-identique présentent une GVHD aiguë. Le taux de mortalité des GVHD de grade III ou IV peut atteindre 90 %. Certains facteurs

favorisent la survenue d'une GVHD :

- l'âge élevé du receveur ;
- les femmes donneuses (surtout en cas de grossesses antérieures et si le receveur est un homme) ;
- les greffes réalisées en poussée de l'hémopathie ;
- l'utilisation d'un conditionnement alourdi ;
- les infections après la greffe, en particulier les réactivations de CMV ;
- la disparité HLA ;
- le type de greffon : les greffes réalisées à partir de sang placentaire s'accompagnent moins fréquemment de GVHD que les greffes réalisées à partir de la moelle ou de CSP. Cela s'explique par la naïveté du système immunitaire des greffons de sang placentaire.

e.4. Traitement préventif

La fréquence et la gravité de la GVHD aiguë imposent un traitement préventif systématique, sauf en cas de greffe syngénique (d'un donneur jumeau monozygote). Habituellement, le traitement préventif consiste en l'utilisation d'un traitement immunosuppresseur après la greffe.

Immunosuppression post-greffe. L'association de ciclosporine A et de méthotrexate est, depuis plus de 20 ans, considérée comme la prophylaxie de référence [204] dans les greffes à conditionnement myéloablatif. Plus récemment, le tacrolimus (FK 506) et la rapamycine ont également été évalués, avec des résultats intéressants [205, 206]. L'intérêt du mycophénolate mofétil, en association à de la ciclosporine, est actuellement bien documenté dans les greffes à conditionnement nonmyéloablatif [150].

Le sérum antilymphocytaire utilisé dans le conditionnement pour prévenir le rejet joue également un rôle dans la prévention de la GVHD en raison de sa durée de vie responsable d'une

déplétion T du greffon in vivo.

Alors que la corticothérapie est le traitement curatif de première intention dans les GVHD aiguës, son intérêt pour le traitement préventif est controversé [207].

Manipulation du greffon avant la greffe. Il a été prouvé que l'élimination des lymphocytes T du greffon était un moyen très efficace de prévention de la GVHD aiguë et chronique [208].

Actuellement, la déplétion en lymphocytes T se fait le plus souvent par sélection positive des cellules CD34+. Cette technique est principalement utilisée dans les greffes à haut risque de GVHD.

L'utilisation de techniques de déplétion T présente trois inconvénients principaux [209] :

- une incidence de rechute plus élevée, l'abolition de la GVHD s'accompagnant d'une abolition de l'effet GVL ;
- une augmentation de non-prise ou de rejet ;
- une aggravation du déficit immunitaire postgreffe.

e.5. Traitement curative:

Le traitement curatif est indiqué pour les GVHD de grade supérieur ou égal à II. En effet, les GVHD peu sévères ne sont souvent pas traitées, pour préserver l'effet GVL. Les corticoïdes sont initialement employés à la dose de 2 mg/kg par jour de méthylprednisolone. Une réponse complète est obtenue chez 25 % à 40 % des patients présentant une GVHD de grade II à IV. Il n'existe actuellement pas de consensus quant au traitement de seconde ligne à proposer en cas d'échec de la corticothérapie.

Si le taux de réponses complètes alors obtenues paraît assez important (entre 35 % et 70 %), le taux de survie à 1 an est inférieur à 30 % dans la plupart des études, principalement en raison des complications infectieuses favorisées par les traitements immunosuppresseurs. Les traitements de seconde ligne actuellement évalués sont : la corticothérapie à haute dose jusqu'à

10 à 20 mg/kg/j pendant 2 à 5 jours, le sérum antilymphocytaire, les anticorps monoclonaux antirécepteur de l'IL2, les anticorps anti-TNF, le mycophénolate mofétil (MMF), la rapamycine, la photothérapie extracorporelle, l'injection de cellules mésenchymateuses allogéniques [210-216].

f. Réaction chronique du greffon contre l'hôte : diagnostic et traitement

Elle apparaît en règle à partir du troisième mois, mais parfois plus tôt, et les formes précoces, voire subaiguës ne sont pas exceptionnelles.

f.1. Description

En raison de la multiplicité des organes cibles possibles, le tableau clinique est d'un grand polymorphisme [217]. La symptomatologie est celle d'une maladie auto-immune. Généralement, la GVHD chronique est précédée, avec ou sans intervalle libre, d'une GVHD aiguë, mais elle peut également apparaître *de novo*.

L'*atteinte cutanée* est quasi constante : elle est constituée de zones d'hyper- et/ou d'hypopigmentation, le plus souvent planes (type lichen plan) ou associées à des papules plus ou moins squameuses. Il peut s'agir d'un érythème diffus associé à une desquamation intense. Le lichen plan peut évoluer vers une forme scléroatrophique, puis vers d'authentiques lésions de sclérodermie avec atteinte tendineuse et articulaire.

L'*atteinte des muqueuses*, fréquente sur la langue, les gencives, la face interne des joues, comporte des lésions lichéniennes associées à un syndrome sec buccal, oculaire et génital. Une atteinte oesophagienne, séreuse ou articulaire peut y être associée.

L'*atteinte hépatique*, au moins au plan biologique, est très fréquente (95 % des cas). Elle se traduit par une cytolysse d'intensité variable, le plus souvent modérée, associée à une importante cholestase responsable ou non d'un ictère.

L'*atteinte bronchique* n'est pas exceptionnelle, il s'agit d'une bronchiolite oblitérante. Elle se manifeste initialement par une atteinte obstructive des bronches distales, avec, au scanner, des images de bronchectasies. L'atteinte bronchique de la GVHD chronique est relativement

résistante au traitement et peut évoluer vers une insuffisance respiratoire terminale. La détection précoce de cette complication en améliore peut-être le pronostic [218].

L'*atteinte des autres organes* est variable dans sa fréquence et sa sévérité : l'atteinte digestive, avec malabsorption, est plus rare que dans la GVHD aiguë. La GVHD chronique est souvent associée à des cytopénies.

Le *tableau clinique de GVHD chronique* est voisin de pathologies auto-immunes décrites en dehors de la greffe de moelle, tels que le lupus, le syndrome de Sjögren, la cirrhose biliaire primitive, la sclérodermie.

Au plan biologique, une hyperéosinophilie est fréquente.

Plusieurs types d'anticorps antitissus ont été décrits : anticorps antinoyaux, antimuscle lisse, antimitochondries, antithyroïdiens.

Il existe une hypo- ou une hyperglobulinémie, avec fréquemment un profond et durable déficit en immunoglobulines A (IgA) associé à un déficit en IgG2 et IgG4. L'immunopathologie des lésions cutanées ou labiales révèle des dépôts d'IgM et de complément le long des membranes basales. La GVHD chronique est classiquement classée en forme limitée et en forme extensive (Tableau 4), mais une nouvelle classification rendant compte du nombre et de la sévérité des sites atteints a été proposée par le NIH américain.

f.2. Incidence et facteurs favorisants

Pour le même type de conditionnement, la GVHD chronique est plus fréquente après greffe de CSP qu'après greffe de moelle.

Dans une population de greffes familiales HLA-identiques, avec un conditionnement myéloablatif, l'incidence de la GVHD chronique à 3 ans a été de 51 % pour la moelle et de 67 % pour les CSP et respectivement de 31 % et 47 % pour les formes extensives [149] (Fig. 2). La topographie des lésions paraît similaire dans les deux types de greffe, y compris les manifestations hépatiques et pulmonaires, avec cependant une tendance à l'atteinte cutanée sclérodermiforme plus étendue, l'atteinte oculaire et l'atteinte vaginale plus fréquente pour les CSP.

L'autre caractère spécifique de la GVHD chronique post-CSP concerne sa résistance particulière aux traitements habituels.

L'impact de cette maladie résistante sur la qualité de vie des patients peut être illustré par le temps médian pour obtenir un index de Karnofsky à 90 % après GVHD chronique, qui est de 6 mois dans le groupe moelle et de 12 mois dans le groupe CSP [220-221].

La GVHD chronique succède souvent à une GVHD aiguë, avec ou sans intervalle libre, mais elle peut apparaître de novo surtout après les greffes de CSP. Les facteurs favorisants sont l'âge élevé, la préexistence d'une GVHD aiguë et l'utilisation de CSP comme source de CSH.

f.3. Prévention et traitement

La meilleure prévention de la GVHD chronique est celle de la GVHD aiguë. Le traitement de référence de la GVHD chronique, depuis 20 ans, est en première intention une association de ciclosporine A et de corticothérapie [222]. Il n'existe actuellement pas de standard pour le traitement de seconde ligne. De nombreux traitements sont utilisés : l'azathioprine, la thalidomide, le mycophénolate mofétil, la rapamycine [223], le rituximab (anticorps monoclonal anti-CD20) [224]. En outre, la photothérapie extracorporelle a montré une certaine efficacité principalement dans les formes sclérodermiformes [225]. Malgré cela, 10 % à 15 % des malades atteints de GVHD chronique meurent de complications infectieuses secondaires à l'immunosuppression induite par la GVHD chronique elle-même ou par ses traitements.

f.4. Voies actuelles de développement dans le traitement de la maladie du greffon contre l'hôte :

La déplétion ex vivo des lymphocytes T du greffon permet de diminuer fortement l'incidence de la GVHD, mais augmente l'incidence du rejet et aggrave le déficit immunitaire postgreffe responsable de complications infectieuses. La réalisation de greffes déplétées spécifiquement en lymphocytes T alloréactifs du greffon devrait permettre de prévenir la GVHD sans entraîner de déficit immunitaire sévère. C'est dans ce but que plusieurs équipes ont développé, d'abord in vitro et dans des modèles animaux, des stratégies consistant à stimuler et à activer spécifiquement ex vivo les lymphocytes T alloréactifs du greffon en les mettant en

présence de cellules mononucléées irradiées du receveur. Les lymphocytes alloréactifs sont ensuite :

- triés et éliminés [226] ;
- détruits par l'utilisation d'une immunotoxine dirigée contre le récepteur de l'interleukine 2 [227] ou anergisés par l'utilisation de *cytotoxic T lymphocyte antigen* (CTLA)-4-Ig [228].

Ces techniques permettent de prévenir efficacement la GVHD, mais leur intérêt est encore difficile à apprécier en termes de rapidité et de qualité de reconstitution immunitaire.

3.2. Non-prise et rejet de greffe :

La non-prise peut être liée à un rejet ou à une inhibition toxique ou virale de l'hématopoïèse.

Le rejet (HVG) est dû à la persistance, après le conditionnement, de lymphocytes T de l'hôte capables de s'activer et de rejeter le greffon. Il a été montré qu'il existe alors, temporairement, un chimérisme mixte, c'est-à-dire la cohabitation de cellules hématopoïétiques de l'hôte et du donneur.

L'HVG est une complication rare (moins de 2 %) après greffe de moelle géno-identique utilisant un conditionnement myéloablatif et en l'absence de manipulation ex vivo du greffon. En revanche, elle est favorisée par :

- la disparité HLA entre donneur et receveur ;
- l'utilisation d'un conditionnement non myéloablatif ;
- l'utilisation d'un greffon pauvre en cellules CD34+ comme dans les greffes de sang placentaire où le risque de non prise est supérieur à celui observé après les greffes de CSP ou les greffes de moelle ;
- la déplétion en cellules T du greffon.

Dans les situations à haut risque d'HVG, différentes techniques de prévention sont utilisées [229] :

- modifications du conditionnement, rendu davantage immunosuppresseur afin de détruire les lymphocytes T résiduels de l'hôte (utilisation de sérum antilymphocytaire, d'anticorps monoclonaux anti-T, etc.) ;
- augmentation du nombre de cellules souches CD34+ contenues dans le greffon par l'utilisation d'un greffon de cellules souches périphériques plus riche en cellules CD34+ qu'un greffon médullaire.

En cas de rejet, des secondes greffes ont été réalisées avec succès. Il paraît alors préférable de choisir un greffon de CSP, plus riche en CSH, plutôt qu'un greffon médullaire.

3.3. Réaction du greffon contre la leucémie :

L'idée que l'alloréactivité puisse générer un effet antileucémique a été suggérée dans un modèle murin de leucémie où le taux de rechutes après greffe syngénique est supérieur à celui observé après greffe allogénique. Chez l'homme, l'effet greffon contre la leucémie (GVL) est étroitement corrélé à la GVHD : le taux de rechutes de la leucémie est moindre chez les patients atteints d'une GVHD aiguë et/ou chronique [230]. L'effet GVL est observé même en l'absence de GVHD clinique comme l'indiquent les taux de rechutes plus élevés après une greffe allogénique comportant une déplétion des lymphocytes T qu'après une greffe allogénique standard, même en l'absence de GVHD patente [231].

La physiopathologie de la GVL n'est qu'imparfaitement connue. Des questions restent posées au sujet des cibles et des effecteurs exacts de cette réaction, et donc de la possibilité de dissocier la GVL et la GVHD. Il est probable que la réponse dépende principalement de l'antigène cible en cause. Si l'antigène impliqué dans l'effet GVL est spécifique de la cellule tumorale ou d'expression restreinte au tissu hématopoïétique, GVL et GVHD sont potentiellement séparables. En revanche, si l'antigène reconnu est un antigène mineur ou majeur d'histocompatibilité, l'effet

GVL est proportionnel à l'intensité de la GVHD. Dans la leucémie myéloïde chronique (LMC), une cible évidente pourrait être la protéine de fusion BCR-ABL.

Les lymphocytes T contenus dans le greffon sont probablement les effecteurs de la GVL, car celle-ci diminue après déplétion T du greffon.

Dans des greffes réalisées en situation d'histo-incompatibilité partielle, les cellules NK du donneur pourraient être responsables d'un effet GVL. En effet, dans ce type de greffe, l'absence d'interaction entre les récepteurs inhibiteurs des cellules NK du donneur (KIR) et les molécules HLA de classe I exprimées à la surface des cellules leucémiques du receveur permet la lyse des cellules leucémiques par les cellules NK du donneur.

L'importance de l'effet antitumoral des cellules NK dans ce type de greffe a été rapportée par l'équipe italienne de Pérouse [232], mais n'a pas été confirmée dans notre expérience, en raison de l'immaturation des cellules NK en période postgreffe précoce [197].

Si les cibles et les effecteurs de la GVL ne sont qu'imparfaitement connus, l'importance de ce phénomène est cependant bien établie chez l'homme. Elle justifie l'utilisation de la greffe de CSH allogénique dans le traitement des hémopathies malignes.

L'efficacité clinique de l'effet GVL dépend du type d'hémopathie maligne. Il paraît très important dans la LMC : environ 15 % des patients greffés en phase chronique avec une moelle non manipulée rechutent contre plus de 70 % lorsque la moelle est T-déplétée. L'effet GVL semble moins important dans les leucémies aiguës myéloïdes et surtout lymphoïdes.

L'existence d'un effet GVL justifie la mise en oeuvre de perfusions de lymphocytes du donneur pour traiter les rechutes postallogreffe (cf. infra).

3.4. Déficit immunitaire

Il existe, schématiquement, deux types de déficit immunitaire après une allogreffe de CSH. Durant la phase précoce, c'est-à-dire durant la période de neutropénie secondaire au conditionnement, il s'agit d'un défaut de l'immunité non spécifique qui s'accompagne d'un risque d'infections bactériennes et fongiques. Plus tardivement surviennent les complications

infectieuses en rapport avec le déficit de l'immunité spécifique.

Le déficit de l'immunité spécifique postgreffe s'explique par les phénomènes suivants :

- destruction du système immunitaire du receveur par le conditionnement de greffe;
- administration au receveur d'un traitement préventif ou curatif de la GVHD ;
- immunosuppression induite par la GVHD.

La reconstitution immunitaire lymphocytaire post-greffe est due aux cellules immunitaires du donneur contenues dans le greffon ; durant les premiers mois postgreffe, ces cellules présentent un déficit qualitatif et quantitatif.

a. Mécanismes de la reconstitution immunitaire lymphocytaire post-greffe :

La reconstitution d'une immunité spécifique après greffe de CSH est lente, exposant les patients à des risques infectieux et tumoraux. Durant les premiers mois post-greffe, les lymphocytes T proviennent en majorité de l'expansion des lymphocytes T matures du greffon et les phénomènes de différenciation/ maturation à partir des progéniteurs réinjectés restent minoritaires.

La réapparition d'une population naïve témoignant d'une différenciation à partir des cellules souches survient chez l'adulte au-delà d'1 an postgreffe [233-235]. Ce phénomène est plus précoce chez l'enfant en raison de la persistance du thymus. En cas de greffe déplétée en lymphocytes T ex vivo, la lymphopénie est plus prolongée. À l'inverse, la reconstitution immunitaire est plus rapide après greffe de CSP qu'après greffe de moelle, probablement en raison du plus grand nombre de lymphocytes apportés par le greffon. La reconstitution immunitaire lymphocytaire est plus longue après greffe de sang placentaire, peut-être en raison de la naïveté du système immunitaire contenu dans le greffon [236].

La majorité des patients perdent leur immunité vaccinale, acquièrent mal celle du donneur et doivent être revaccinés après la greffe.

L'étude des sous-populations lymphocytaires permet de montrer qu'il existe, après greffe

familiale HLA-identique non manipulée, une lymphopénie CD4 pendant les six premiers mois alors que le taux des lymphocytes CD8 et des cellules NK redevient plus rapidement normal [233, 234].

Il existe en outre un déficit lymphocytaire qualitatif durant les premiers mois post-greffe, mis en évidence par :

- l'utilisation de tests fonctionnels de prolifération et de cytotoxicité ;
- l'étude de la production des cytokines ;
- l'étude de la transduction du signal ou l'étude de la diversité du répertoire T [234].

Le déficit immunitaire postgreffe est majoré :

- par l'utilisation de traitements préventifs et curatifs de laGVHD, dont la déplétion lymphocytaire T ex vivo ;
- par la GVHD elle-même ;
- par l'existence d'une disparité HLA entre le donneur et le receveur.

3.5. Complications infectieuses :

a. Précoces (durant la période d'aplasie) [237]

Durant cette période, la neutropénie, l'altération de la barrière digestive secondaire au traitement chimio- et/ou radiothérapeutique, l'utilisation de cathéters centraux sont autant de facteurs contribuant au risque infectieux. Durant l'aplasie, la symptomatologie est souvent pauvre du fait de l'absence de signe inflammatoire, et la fièvre est souvent le seul signe d'infection. Le pourcentage de fièvre cliniquement ou microbiologiquement documentée varie selon les études entre 20 % et 65 %. Les points d'appel cliniques les plus fréquents sont les foyers pulmonaires, les infections des sites de cathéter, les infections à point de départ buccal ou pharyngé.

Les infections très précoces après le début de l'aplasie sont essentiellement des infections bactériennes alors que les infections fongiques sont plus tardives.

a.1. Complications infectieuses précoces :

Pendant les premières semaines postgreffe, c'est-à-dire pendant la période d'aplasie, le risque est celui d'infections bactériennes et fongiques. Les infections virales ou à microorganismes tels que *Toxoplasma gondii* ou *Pneumocysti jiroveci* (anciennement *carinii*) surviennent en général plus tardivement et sont d'autant plus fréquentes que le déficit de l'immunité spécifique est profond.

 **Infections bactériennes.**

Documentation microbiologique. Parmi les infections bactériennes documentées, environ 70 % sont dues à des cocci à Gram positif (CGP) (principalement staphylocoques à coagulase négative en rapport avec l'utilisation de cathéters veineux centraux) et 30 % sont dues à des bacilles à Gram négatif (BGN) : entérobactéries ou pyocyaniques (dont la plupart proviennent du tube digestif). Plusieurs facteurs peuvent expliquer l'émergence croissante des infections à CGP : l'utilisation de voies veineuses centrales pour les staphylocoques à coagulase négative et l'utilisation de conditionnements de greffe lourds, responsables d'une toxicité muqueuse importante pour les infections à streptocoques.

Documentation clinique. Les infections pulmonaires sont fréquentes. Durant l'aplasie, la radiographie est parfois normale malgré l'infection, le foyer n'apparaissant qu'à la sortie d'aplasie. Le lavage bronchoalvéolaire avec brossage endobronchique est souvent peu contributif chez les patients neutropéniques sous antibiothérapie à large spectre. Les lésions anorectales peuvent être le point de départ de cellulites extensives et nécrosantes.

La bouche est souvent le siège d'une mucite importante et peut être le point de départ d'infection streptococcique, herpétique ou candidosique.

Le tube digestif est souvent le point de départ d'infection à BGN. Les coprocultures régulières peuvent mettre en évidence une prolifération bactérienne intestinale à l'origine d'une dissémination hématologique. Une décontamination digestive par des médicaments non absorbables permet de diminuer l'incidence des septicémies à BGN.

Conduite à tenir. En raison du risque vital que représente une infection chez l'aplasique, l'instauration d'une antibiothérapie, en cas de fièvre, est une urgence.

L'antibiothérapie doit :

- être dirigée contre les micro-organismes les plus immédiatement dangereux (les bacilles à Gram négatif) ;
- être rapidement bactéricide ;
- présenter le moins de risque de sélection de résistance et donc comporter idéalement une association synergique.

L'association d'une bêtalactamine active sur les BGN et d'un aminoside reste l'association de référence en première intention.

Infections fongiques.

Le risque d'infection fongique augmente avec la durée d'aplasie. En l'absence de traitement préventif ou préemptif, le risque est d'environ 20 % si la durée de la neutropénie est inférieure à 20 jours, il atteint 40 % si elle est supérieure à 20 jours. Les champignons les plus souvent en cause sont *Candida* et *Aspergillus*. Les infections fongiques peuvent survenir également au-delà de la période d'aplasie, principalement chez les patients atteints de GVHD et traités par corticothérapie.

Infection à *Candida*.

Le premier signe clinique reste souvent la fièvre inexplicée, résistante aux antibiotiques antibactériens.

Pour cette raison, la persistance de la fièvre 48 à 72 heures après une 2^{ème} ligne d'antibiothérapie conduit la plupart des équipes à ajouter de façon empirique un traitement antifongique systémique.

Le tube digestif peut être le point de départ d'une candidose systémique responsable de localisations cutanées, pulmonaires, rénales, cardiaques, hépatiques ou musculaires.

✚ **Infection à *Aspergillus*.** C'est par ordre de fréquence, le deuxième agent fongique responsable d'infections chez les patients allogreffés. La voie de contamination la plus habituelle est l'inhalation de spores.

La prévention repose sur l'isolement des patients dans des chambres à haut renouvellement d'air filtré. Les localisations les plus fréquentes sont pulmonaires et sinusiennes. La dissémination hématogène peut être responsable de localisations cérébrales, hépatiques, spléniques, digestives. Les signes évocateurs sont la fièvre résistant à une antibiothérapie à large spectre, la toux, la dyspnée, éventuellement des douleurs thoraciques. La radiographie de thorax et le scanner pulmonaire montrent des infiltrats avec souvent un aspect de halo et parfois des images en « grelot », quasi pathognomoniques. Les spores aspergillaires sont inconstamment retrouvées dans le produit de lavage bronchoalvéolaire. En revanche, la positivité de l'antigénémie aspergillaire chez un patient à risque est d'un grand apport diagnostique.

a.2. Complications infectieuses tardives :

Infections virales. Le déficit de l'immunité spécifique se traduit par une fréquence élevée d'infection par les virus du groupe herpès (CMV, *Epstein-Barr virus* [EBV], *human herpes virus 1* [HHV-1], *human herpes virus 2* [HHV-2], *varicelle zona virus* [VZV], *human herpes virus 6* [HHV-6]) [238].

Les infections à CMV surviennent chez 60 % des patients séropositifs avant la greffe et chez 30 % des patients séronégatifs greffés à partir d'un donneur séropositif. Le virus peut être à l'origine d'une maladie à CMV (en particulier pneumopathie oucolite) potentiellement mortelle en l'absence de traitement.

Actuellement, la détection des réactivations du CMV par antigénémie ou *polymerase chain reaction* (PCR) permet un diagnostic précoce et un traitement préemptif (par ganciclovir ou foscavir), ce qui a conduit à une diminution importante de la morbidité et de la mortalité due au CMV [239]. Si la plupart des infections à CMV sont actuellement contrôlées par ces médicaments, il persiste des situations de déficit immunitaire profond où le CMV peut être responsable d'une

infection chronique difficilement contrôlable par les antiviraux. Dans ces situations, le transfert de clones de lymphocytes T cytotoxiques spécifiques du CMV a été utilisé [240].

Virus de la varicelle et du zona. Le zona est secondaire à une réactivation du virus de la varicelle présent dans l'organisme.

Chez les patients allogreffés, il est souvent étendu et parfois extensif. Il doit être traité très rapidement par aciclovir. *HHV-1 et HHV-2.* Les infections à herpès simplex virus sont très fréquentes, touchant principalement la bouche, la peau, et sont des facteurs aggravants des mucites secondaires au conditionnement de greffe. *HHV-6.* Les réactivations de HHV-6, objectivées par la positivité de la PCR, sont fréquentes après allogreffe. La majorité de ces réactivations sont asymptomatiques, mais certaines peuvent être responsables de fièvre, de rashs cutanés, de cytopénies ou d'encéphalites qui doivent être traitées par ganciclovir et/ou foscavir. *Hépatites B et C.* Des réactivations des virus de l'hépatite B ou de l'hépatite C peuvent être observées après allogreffe de CSH chez des patients porteurs chroniques ou même, pour l'hépatite B, chez des patients ayant un statut de guérison (présence d'anticorps anti-HBs et anti-HBc). Le virus peut également être transmis par le donneur. Ces réactivations ou ces infections se manifestent d'abord par une augmentation de la réplication virale, favorisée par le déficit immunitaire. Lors de la restauration d'une cytotoxicité lymphoïde T, une hépatite aiguë se développe avec parfois une défaillance hépatique mortelle (dans 12 % à 20 % des cas). En revanche, les porteurs chroniques du virus de l'hépatite B ne semblent pas exposés à un risque accru de maladie veino-occlusive du foie ou de GVHD hépatique.

Certaines données de la littérature suggèrent que la greffe réalisée à partir d'un donneur immunisé contre le virus de l'hépatite B peut protéger le receveur d'une réactivation virale, voire induire chez celui-ci une séroconversion.

Les porteurs du virus de l'hépatite C ont, après la greffe, un risque plus important d'évoluer vers la fibrose.

Autres infections virales. L'adénovirus peut être responsable d'hépatites fulminantes, de pneumopathies, de syndromes d'activation macrophagique. Sa réplication peut actuellement être

détectée dans le sang et d'autres sites par PCR. Le BK virus est responsable de cystites hémorragiques.

Infections tardives non virales. Le conditionnement de greffe, en particulier l'ICT, entraîne un hyposplénisme qui rend les patients particulièrement sensibles vis-à-vis des germes encapsulés, dont le pneumocoque. Une prévention systématique est assurée par la prise quotidienne de phénoxyéthylpénicilline et la vaccination post-greffe. Une vaccination anti-*Haemophilus* doit également être pratiquée après la greffe.

Les patients atteints d'une GVHD traitée par corticothérapie sont sujets aux infections par *Pneumocystis jirovecii* et un traitement préventif doit être réalisé par cotrimoxazole, ou aérosols de pentamidine.

Les infections par *Toxoplasma gondii* peuvent être dues à une réactivation chez les patients séropositifs. Elles semblent plus fréquentes lorsque les patients sont greffés à partir de donneurs séronégatifs (absence de transfert de l'immunité spécifique du donneur au receveur). Un traitement préventif (cotrimoxazole) doit être donné aux patients à risque de réactivation. Le diagnostic précoce de réactivation peut être réalisé par PCR.

Les anguilluloses peuvent être à l'origine d'un envahissement massif du tube digestif et de pneumopathies. Les sujets à risque doivent recevoir de manière systématique un traitement préventif.

b. Complications tardives :

b.1. Néoplasies secondaires :

- Lymphoproliférations liées à l'Epstein-Barr virus

La majorité des syndromes lymphoprolifératifs postgreffe sont associés à l'EBV. Le virus infecte les lymphocytes B et induit une prolifération lymphocytaire B, d'abord oligoclonale puis monoclonale. Le contrôle de ces lymphoproliférations est assuré par les lymphocytes T spécifiques d'antigènes de l'EBV, exprimés à la surface des cellules infectées. Cela explique que

ces lymphoproliférations surviennent principalement dans les premiers mois postgreffe, au moment où le déficit immunitaire est le plus important, et que leur fréquence est étroitement corrélée au degré d'immunodépression des patients greffés (de 0,4 % après greffe géno-identique non compliquée à 24 % après greffe déplétée en lymphocytes T ex vivo). Les proliférations se développent, dans la majorité des cas, à partir des cellules du donneur, mais peuvent survenir sur les lymphocytes B résiduels du receveur, surtout après greffes à conditionnement non myéloablatif. Évoqué devant une fièvre et un syndrome tumoral, le diagnostic est confirmé par la présence de cellules tumorales exprimant le génome de l'EBV. Une répllication EBV importante (mesurée par la charge virale en PCR) est prédictive du risque de développer un syndrome lymphoprolifératif lié à l'EBV. Elle doit être recherchée chez les patients à risque afin d'instaurer un traitement précoce. La réduction des traitements immunosuppresseurs et la chimiothérapie donnent des résultats médiocres. Plus récemment, d'autres approches ont prouvé leur efficacité, telles que l'utilisation d'anticorps monoclonaux anti-B [241]. Dans la mesure où les lymphocytes T cytotoxiques spécifiques de l'EBV jouent un rôle primordial dans le contrôle de l'infection, l'injection de lymphocytes totaux du donneur permet de traiter les syndromes lymphoprolifératifs liés à l'EBV [242]. Ce traitement peut cependant être générateur de GVHD sévère. Pour cette raison, plusieurs équipes ont généré in vitro des lymphocytes T cytotoxiques spécifiques de l'EBV et montré l'efficacité de l'administration de ces cellules, pour prévenir ou traiter des syndromes lymphoprolifératifs liés à l'EBV [243].

- Tumeurs solides

Les patients traités par allogreffe de CSH ont un risque accru de développer un cancer. Chez les greffés qui survivent 10 ans après la greffe, ce risque est estimé 8,3 fois supérieur à celui observé dans la population générale. L'incidence cumulée est de 6,7 % à 15 ans. Dans cette population, il existe une augmentation de la fréquence des mélanomes, des cancers de la cavité buccale, du foie, du système nerveux central, de la thyroïde, des os et des tissus mous. Les

facteurs de risque principaux sont l'existence d'une GVHD chronique et l'utilisation d'un conditionnement comportant une haute dose d'ICT [244].

4. Autres complications de l'allogreffe :

4.1. Complications précoces :

a. Pneumopathies interstitielles

Les pneumopathies interstitielles (PI) non bactériennes, non fongiques constituaient, il y a quelques années, une complication fréquente et sévère des allogreffes de CSH. L'agent infectieux en cause était fréquemment le CMV. Depuis le traitement systématique et précoce des réactivations à CMV, leur fréquence a beaucoup diminué. Actuellement, le lavage bronchoalvéolaire (LBA) permet souvent d'identifier l'agent infectieux responsable de ces PI : virus du groupe herpès, adénovirus, virus respiratoire syncytial, ou *Pneumocystis jiroveci*.

Lorsque aucun agent pathogène n'est retrouvé, on parle de PI idiopathique, dont la pathogénie reste discutée : agent pathogène inconnu, GVHD, toxicité des conditionnements. Elles compliquent 7 % à 18 % des allogreffes avec une médiane de survenue dans les deuxième et troisième mois. Le taux de mortalité excède 60 %. Les facteurs favorisant ces pneumopathies sont :

- l'utilisation d'un conditionnement comportant une ICT (surtout les ICT à forte dose et les ICT non fractionnées) ;
- les antécédents de radiothérapie pulmonaire ;
- l'existence d'infections systémiques. La fréquence des PI idiopathiques est plus faible après autogreffe, suggérant que la GVHD puisse favoriser la survenue de cette complication.

La symptomatologie associée de la fièvre, une toux non productive, une polypnée et une hypoxie. Radiologiquement, il existe des infiltrats diffus alvéolaires et/ou interstitiels. Le lavage

bronchoalvéolaire doit être réalisé pour éliminer la responsabilité d'un micro-organisme.

Il n'existe plus qu'exceptionnellement d'indication de biopsie pulmonaire. Aucun traitement autre que symptomatique n'a prouvé son efficacité. La corticothérapie n'a pas été évaluée dans des essais prospectifs.

b. Maladie veino-occlusive du foie [245]

La maladie veino-occlusive (MVO) du foie est une complication secondaire à la toxicité des traitements radiochimiothérapeutiques.

Elle débute dans les deux ou trois premières semaines après la greffe. Il s'agit d'une obstruction primitivement non thrombotique des petites veines centrolobulaires

hépatiques qui complique entre 5 % et 20 % des allogreffes après conditionnement myéloablatif. Sa fréquence est corrélée à la lourdeur des traitements reçus avant la greffe et à celle du conditionnement. Elle est moins fréquente dans les greffes à conditionnements réduits. La préexistence d'une atteinte hépatique, infectieuse ou toxique, constitue un facteur de risque.

b.1. Physiopathologie

Le développement d'une MVO se fait en deux étapes.

La première est secondaire à la toxicité du conditionnement (en particulier de l'ICT et du busulfan). La toxicité du conditionnement serait due à une déplétion des hépatocytes et des cellules endothéliales sinusoidales en glutathion, altérant le métabolisme du cyclophosphamide. Parmi les autres substances potentiellement hépatotoxiques, citons : la carmustine à fortes doses, le carboplatine et la cytarabine. Enfin, la dose totale d'ICT est corrélée à la survenue et à la sévérité de la MVO.

La seconde étape est la survenue de microthromboses des veines centrolobulaires responsables de la diminution du flux veineux, de l'hypertension portale et de l'ascite. Les mécanismes du syndrome hépatorénal responsables de la rétention hydrosodée précoce sont inconnus, mais peuvent mettre en jeu des médiateurs vasoactifs, entraînant une vasoconstriction

des sinusoides hépatiques et des vaisseaux rénaux, sur un rein par ailleurs préalablement lésé par le conditionnement.

b.2. Diagnostic

Le diagnostic de MVO est évoqué devant la triade clinique : hépatomégalie douloureuse, prise de poids et ictère. Sur le plan biologique, l'hyperbilirubinémie précède l'élévation des transaminases et des phosphatases alcalines, souvent modeste et retardée. Il s'y associe précocement une thrombopénie réfractaire aux transfusions plaquettaires. Dans les formes graves, il peut exister une insuffisance hépatocellulaire avec encéphalopathie, une insuffisance rénale due à l'existence d'un troisième secteur. L'échodoppler hépatique permet de visualiser l'hépatomégalie, l'ascite et la diminution du flux hépatique, voire, à un stade avancé, une inversion du flux veineux portal. Dans les situations où le diagnostic est difficile, la ponction-biopsie hépatique (PBH) par voie transveineuse avec prise de la pression intrahépatique est utile. L'étude histologique permet le diagnostic en montrant l'obstruction veineuse.

b.3. Traitement préventif

Il est particulièrement indiqué chez les patients à risque : antécédents de MVO, seconde transplantation, transaminases élevées avant la greffe et fibrose extensive ou cirrhose. Il consiste avant tout à adapter le conditionnement (diminution des doses de busulfan ou de cyclophosphamide ou des doses d'irradiation) ou à réaliser un conditionnement non myéloablatif. Quelques études ont de plus montré l'intérêt de l'héparine à faible dose en perfusion continue ou de la dinoprogestone (Prostine®).

b.4. Traitement curatif

La majorité des MVO se résolvant spontanément, le traitement est principalement symptomatique (transfusions de plaquettes, diurétiques, ponctions d'ascites évacuatrices, etc.). Le pronostic des MVO grave avec insuffisance hépatocellulaire et insuffisance rénale reste sombre. Des résultats intéressants ont cependant été rapportés avec les traitements

thrombolytiques tels que le rh-tPA (activateur tissulaire du plasminogène recombinant humain), le défibrotide, les prostaglandines, ou les dérivation portocaves.

c. Complications neurologiques

Des leucoencéphalites démyélinisantes peuvent s'observer après radiothérapie et chimiothérapie intrathécale. La succession d'une irradiation fractionnée du système nerveux central à dose élevée, d'une chimiothérapie intrathécale et d'une ICT constitue les conditions de survenue de ces complications. Récemment ont été rapportées, de manière non exceptionnelle, des encéphalites après l'utilisation de fludarabine. Les encéphalites toxiques doivent être différenciées des leucoencéphalites multifocales progressives en rapport avec le JC virus ou des exceptionnelles encéphalites à CMV. D'autres virus peuvent être responsables de méningites ou méningoencéphalites ; il s'agit principalement des virus du groupe herpès, dont l'HHV-6, qui est incriminé de manière non exceptionnelle chez les patients présentant des troubles neurologiques après allogreffe.

4.2. Complications tardives [246] :

a. Complications oculaires :

Après ICT à dose unique, le risque de cataracte est estimé à 75 % à 6 ans. Il est diminué après irradiation fractionnée et après des conditionnements sans ICT. Les corticoïdes utilisés de façon prolongée pour le traitement d'une GVHD aggravent ce risque.

b. Retentissement hormonal :

b.1. Complications thyroïdiennes

Un dysfonctionnement thyroïdien biologique est retrouvé chez environ la moitié des transplantés à distance de la greffe ; chez 80 % d'entre eux cependant, une compensation par augmentation de la *thyroid stimulating hormone* (TSH) est observée.

b.2. Complications gonadiques

Le conditionnement de greffe entraîne des dysfonctionnements gonadiques. Ces atteintes sont dues à l'utilisation d'alkylants à haute dose et à l'irradiation. Chez l'homme, la fonction endocrinienne (production de testostérone) est rarement gravement altérée, mais il existe une atteinte fréquente de la spermatogenèse. Une stérilité définitive est observée chez la quasi-totalité des hommes traités par busulfan ou ICT, alors qu'il existe une restauration de la fonction exocrine chez 60 % des patients conditionnés par cyclophosphamide seul.

Chez la femme, le risque de stérilité est fortement corrélé à l'âge au moment de la greffe et au type de conditionnement utilisé. Ainsi, après un conditionnement comportant du cyclophosphamide ou du melphalan à haute dose, la majorité des patientes ont une restauration de la fonction ovarienne (définie par une normalisation des taux de *luteinizing hormone* [LH], *follicle stimulating hormone* [FSH] et estradiol, et la réapparition de règles). Ce phénomène est d'autant plus fréquent que les patientes sont plus jeunes au moment de la greffe et ont reçu moins d'alkylants avant le conditionnement. Le busulfan et l'ICT à dose myéloablatrice entraînent généralement une stérilité. Un traitement hormonal substitutif doit être donné en cas de ménopause induite.

Dans les rares cas de grossesse spontanée rapportée après allogreffe conditionnée par une ICT, les risques de fausse couche, prématurité et petits poids de naissance sont plus importants que dans la population générale. Quand la situation hématologique le permet, des techniques de préservation de la fertilité sont proposées avant la greffe aux receveurs jeunes à risque de stérilité postgreffe : cryoconservation de sperme, congélation de tissu ovarien, prélèvement d'ovocytes pour fécondation in vitro lorsque cela est possible.

b.3. Retard sur la croissance

Après ICT, un retard de croissance en rapport avec un déficit de sécrétion d'hormone de croissance doit être recherché et traité. L'irradiation propre du squelette peut, surtout chez le très jeune enfant, contribuer à ce défaut de croissance.

5. Rechutes après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques pour hémopathies malignes :

La plupart des rechutes surviennent dans les 2 ans qui suivent la greffe : après ce délai, la rechute est rare, et elle devient exceptionnelle après 5 ans. La très grande majorité des rechutes surviennent sur les cellules de l'hôte, témoignant de la persistance de cellules leucémiques résiduelles après le conditionnement et de leur échappement à l'immunosurveillance du système immunitaire du donneur. Il a cependant été rapporté des cas exceptionnels de rechute survenue sur les cellules du donneur.

5.1. Facteurs favorisants

Certains facteurs favorisent les rechutes post-greffe. Les principaux sont les suivants :

- la greffe réalisée en phase avancée de la maladie. Les patients greffés en poussée d'une hémopathie maligne ont en effet un risque particulièrement élevé de rechute. Pour les patients greffés en rémission complète (RC), le risque de rechute est plus important en deuxième ou en troisième RC qu'en première RC. Pour les patients atteints de LMC, le risque de rechute post-greffe est plus important si la greffe est réalisée en phase d'accélération ou de transformation plutôt qu'en phase chronique ;
- la prophylaxie de la GVHD comportant une *déplétion T ex vivo* ;
- l'absence de GVHD.

5.2. Détection de la rechute

Il existe actuellement des techniques permettant de diagnostiquer les rechutes précocement.

Ainsi, pour certaines hémopathies, les techniques de biologie moléculaire permettent de détecter, avec une grande sensibilité, un transcrit chimérique ou un réarrangement génique et constituent un outil important dans le diagnostic précoce des rechutes après greffe. Ces techniques sont réalisées couramment pour le suivi des LMC et leur positivité est prédictive de la

rechute [247]. L'étude de la maladie résiduelle par les techniques de biologie moléculaire peut également être réalisée pour certaines leucémies aiguës myéloïdes ou lymphoblastiques. En l'absence de marqueur spécifique de la leucémie, l'étude du chimérisme postgreffe peut être un bon marqueur précoce de rechute : la réapparition de marqueur spécifique du receveur précède la détection des cellules leucémiques dans le sang [248].

5.3. Traitement de la rechute

La prise en charge de la rechute est différente en fonction du délai de survenue par rapport à la greffe (rechute précoce ou tardive) et de l'importance de cette rechute (moléculaire, cytogénétique, hématologique ou clinique).

La chimiothérapie seule peut parfois donner des résultats temporairement satisfaisants. En cas de rechute tardive (supérieure à 1 an), des tentatives de deuxième greffe ont été effectuées. Malgré certains succès, les résultats sont souvent décevants. Dans la plupart des cas, un conditionnement nonmyéloablatif sera choisi pour limiter la toxicité du deuxième conditionnement.

L'injection de lymphocytes du donneur (*donor lymphocyte injection* [DLI]) a transformé le pronostic des rechutes post-greffées LMC [249]. Ces lymphocytes sont recueillis par cytophérèse chez le donneur et injectés au patient. Ils ne sont pas rejetés car, si la rechute est détectée précocement, l'hématopoïèse résiduelle et l'immunité restent le plus souvent en majorité celles du donneur. La quantité de lymphocytes injectée varie de 10^7 à 2×10^8 CD3/kg de receveur. Les DLI sont plus efficaces lorsque la rechute est peu importante. En cas de rechute cytogénétique ou moléculaire de LMC, elles permettent d'obtenir une rémission moléculaire chez plus de 70 % des patients. L'effet des DLI est souvent retardé et peut n'apparaître que plusieurs mois après l'injection. L'injection de DLI peut aussi provoquer une GVHD et une insuffisance médullaire. Les DLI sont plus rarement efficaces dans les rechutes de LAM (un quart des cas) et, exceptionnellement, dans les rechutes de leucémie aiguë lymphoblastique (LAL). Des succès plus fréquents seraient observés dans des rechutes de myélome, de leucémie lymphoïde chronique,

voire de lymphome de bas grade de malignité [250].

6. Voies de développement et perspectives d'avenir :

Ces dernières années ont été marquées par des changements majeurs dans les modalités de réalisation des allogreffes de CSH.

En voici les principaux :

- développement très important des greffes à conditionnement réduit, permettant la réalisation d'allogreffes chez des patients plus âgés et plus fragiles ;
- possibilité de réaliser des allogreffes à partir de greffons de CSP, permettant de diminuer le risque de rejet dans les greffes à conditionnement réduit, les greffes déplétées en lymphocytes T, et les greffes en situation de HLA-discordante ;
- expansion des fichiers de donneurs volontaires et développement de techniques performantes de typage HLA ayant permis d'améliorer le pronostic des patients greffés à partir de donneurs volontaires HLA-identiques ;
- développement des greffes de sang placentaire, avec de nouvelles modalités (conditionnements non myéloablatifs et doubles greffes), permettant d'étendre les indications aux receveurs adultes.

Les voies de recherche actuelles concernent principalement le domaine de l'immunomodulation postgreffe, dans le but de diminuer la toxicité liée à la greffe et de renforcer son effet antileucémique. Il s'agit principalement de travaux concernant le contrôle spécifique de la GVHD et le renforcement de l'effet antitumoral.

6.1. Contrôle de la maladie du greffon contre l'hôte :

a. Contrôle de la maladie du greffon contre l'hôte par transduction d'un gène suicide aux lymphocytes du donneur :

Les gènes suicides confèrent aux cellules transduites de nouvelles propriétés métaboliques qui leur permettent de transformer des prodrogues inactives en composés hautement toxiques. Ainsi, le gène de la thymidine kinase du virus herpès-simplex de type 1 (*HS-tk*) confère aux cellules qui l'expriment une sensibilité à des analogues nucléosidiques comme le ganciclovir (DHPG) [251]. Dans ce système, la toxicité est restreinte aux seules cellules en division. Lors de la GVHD, les cellules activées en division sont en majorité les lymphocytes T alloréactifs du donneur. Si ces lymphocytes T contiennent le gène *HS-tk*, l'administration de ganciclovir au receveur doit permettre de les détruire spécifiquement.

En pratique, cette approche consiste :

- à réaliser une greffe de CSH déplétée en lymphocytes T ;
- à transfecter ex vivo les lymphocytes T du donneur avec le gène *HS-tk* ;
- à injecter les lymphocytes transfectés au receveur ;
- à administrer au receveur du ganciclovir, en cas de GVHD, pour détruire les lymphocytes alloréactifs. Cette technique permet de contrôler efficacement la GVHD en tentant de maintenir la réponse immunitaire des lymphocytes non alloréactifs ; son utilisation est cependant limitée par sa lourdeur technique et doit être réservée à des situations à haut risque de GVHD [252].

b. Injection de cellules souches mésenchymateuses (CSM) allogéniques :

Les cellules souches mésenchymateuses (CSM) sont définies, in vitro, comme une population de cellules homogènes, d'aspect fibroblastique, obtenue à partir de la moelle osseuse par adhésion au plastique et capables de se différencier en trois lignées cellulaires : les chondrocytes, les ostéoblastes et les adipocytes. Parallèlement, par la sécrétion de cytokines, les

CSM jouent un rôle majeur dans le soutien de l'hématopoïèse et la prise de greffe. Les CSM possèdent également des propriétés immunomodulatrices, ce qui a justifié leur utilisation dans le traitement de la GVHD. À l'état basal, les CSM sont très peu nombreuses dans la moelle osseuse. Leur culture in vitro permet leur expansion pour leur utilisation en recherche et dans des applications cliniques.

La première utilisation des CSM dans le traitement préventif de la GVHD a été rapportée par Lee en 2002. Une étude plus large a rapporté l'utilisation préventive de CSM chez 46 patients recevant une allogreffe familiale HLA-identique [253]. Cette étude démontre l'absence de toxicité des CSM, mais les cellules ne sont détectées que chez 11 % des receveurs. Dans cette étude non comparative, la vitesse de reconstitution hématopoïétique et l'incidence de la GVHD ne paraissent pas différentes de celles observées dans des séries historiques. Pour évaluer d'une manière plus précise l'intérêt des CSM dans le traitement préventif de la GVHD, la Société française de greffe de moelle et de thérapie cellulaire a mis en place une étude randomisée portant sur l'administration ou non de CSM après allogreffe familiale ou non apparentée HLA-identique. Parallèlement, les CSM ont été évaluées dans le traitement curatif de la GVHD pour leur effet immunomodulateur, décrit in vitro chez l'homme, et leur capacité, décrite dans les modèles animaux, à réparer les tissus lésés. Le Blanc et al. ont été les premiers à rapporter le bénéfice des CSM chez un patient présentant une GVHD sévère (grade IV, résistante au traitement) [215].

Récemment, une étude rétrospective a colligé 55 cas de patients traités, en Europe, par des CSM pour des GVHD sévères corticorésistantes. Le taux de réponses de 69 %, est très encourageant, mais ces résultats méritent d'être confirmés dans une plus grande cohorte de patients, d'autant que la présence des CSM dans les organes cibles de la GVHD n'a été que très rarement documentée.

6.2. Amélioration de l'effet antitumoral :

a. Intérêt des lymphocytes T régulateurs

Les lymphocytes T régulateurs (Treg) représentent une sous-population de lymphocytes

CD4+ qui expriment fortement le CD25 et jouent un rôle fondamental dans les phénomènes de tolérance. Dans les modèles murins, il a été montré que ces cellules étaient capables de prévenir et de traiter la GVHD, tout en préservant la GVL [254].

Chez l'homme, il a été montré, dans plusieurs études, une corrélation entre le contenu du greffon en Treg et l'incidence de la GVHD ; ces résultats ne sont cependant pas confirmés dans toutes les études. À ce jour, l'intérêt des Treg dans le traitement de la GVHD reste à démontrer chez l'homme [255]. Parallèlement, des approches consistant à dépléter les DLI en Treg pour accroître l'effet antitumoral sont actuellement en cours.

b. Injection de cellules « natural killer » activées

En situation HLA-incompatibles, les cellules NK du donneur peuvent détruire les cellules leucémiques du receveur. En effet, dans ce type de greffe, l'absence d'interaction entre les récepteurs inhibiteurs des cellules NK du donneur (KIR) et les molécules HLA de classe I exprimées à la surface des cellules leucémiques du receveur peut expliquer la lyse des cellules leucémiques par les cellules NK du donneur. Cependant, il a été montré qu'après greffe haplo-identique, les cellules NK présentes chez le receveur étaient immatures et non fonctionnelles [197].

Pour accroître l'effet antitumoral NK après greffe haploidentique, des équipes ont injecté au receveur des cellules NK du donneur sélectionnées et activées ex vivo [256].

Une approche similaire a par ailleurs été appliquée en dehors de tout contexte d'allogreffe de CSH : elle consiste en l'injection à des patients leucémiques de cellules NK haplo-identiques activées, après l'administration au receveur d'un conditionnement immunosuppresseur ayant pour but de prévenir le rejet des cellules NK par le système immunitaire du receveur [257].

V. Discussion des résultats :

1. Données épidémiologiques :

1.1. Activité :

Une estimation faite à partir des registres français a montré un nombre total de greffes de 18.190 durant une période de 04 ans allant de 2009 à 2012 dont 11.491 sont des autogreffes et 6699 sont des allogreffes, soit une moyenne de 2872 autogreffes par an et une moyenne de 1674 allogreffes par an.[258]

En Algérie, on note un nombre total de greffes de 591 durant une période de 04 ans allant de 2005 à 2008 dont 177 sont des autogreffes et 414 sont des allogreffes, soit une moyenne de 44 autogreffes par an et une moyenne de 103 allogreffes par an, ces études sont comparables à des études faites en Tunisie au cours de la même période où on note un nombre total de greffes de 438 dont 251 sont des autogreffes et 187 sont des allogreffes, soit une moyenne de 63 autogreffes par an et une moyenne de 47 allogreffes par an. [259-260]

A Casablanca, un nombre total de 87 autogreffes réalisées au CHU Ibn Rochd durant la période allant de 2004 à 2009.[261]

Au Maroc, au CHU Mohammed VI de Marrakech, 36 cas ont été enregistrés au total dont 24 cas sont des autogreffes et 12 cas sont des allogreffes durant une période de 04 ans allant de Janvier 2012 à Décembre 2015 (TableauXVIII).

Tableau XVIII: Activité de l'unité de greffe de moelle : comparaison avec les autres pays

Pays	Nombre de greffes selon le type		Nombre total de greffe
	Autogreffe	Allogreffe	
France	11.491	6699	18.190
Algérie	177	414	591
Tunisie	251	187	438
Marrakech	24	12	36
Casablanca	87	0	87

Le service de greffe de moelle de Marrakech a commencé son activité en 2012. A Casablanca, l'activité de greffe a démarré en 2004 (uniquement l'autogreffe de moelle). Comparativement avec les pays du Maghreb (Algérie et Tunisie) et d'autres pays du tiers monde exerçant cette activité, notre taux de recrutement demeure encore faible malgré les efforts fournis. Cela peut être expliqué que parfois nous traitons aussi d'autres maladies au niveau de notre unité notamment les leucémies aiguës qui nécessitent aussi une longue durée d'hospitalisation. Une autre explication peut être fournie notamment les complications de l'allogreffe où les malades peuvent être hospitalisés pendant une longue période allant de 3 mois jusqu'à 6 mois.

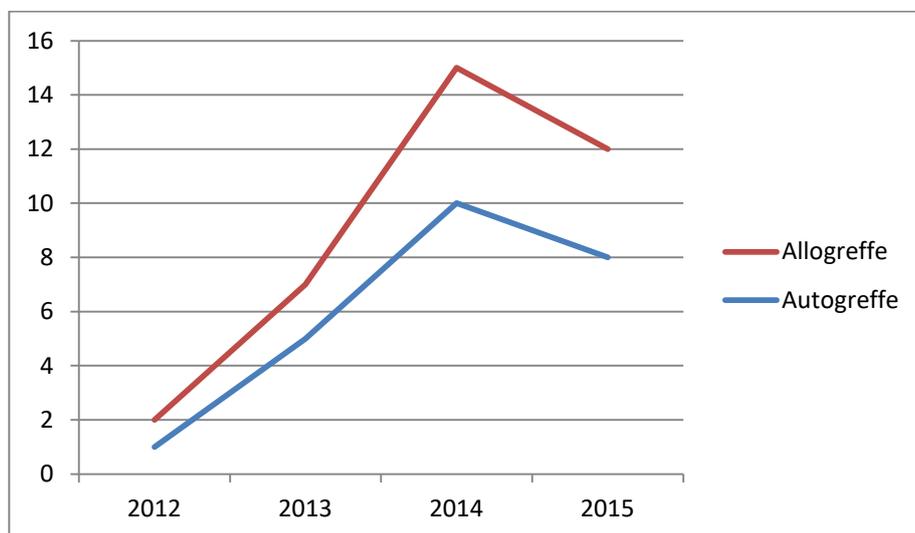


Figure 31 : Activité de la greffe de Janvier 2012 - Décembre 2015

1.2. Age :

a. Autogreffe :

L'âge est un facteur pronostique important à prendre en considération dans l'autogreffe de CSH, avec un meilleur résultat avant 45 ans.

Dans son étude publiée en 2015 aux Etats-Unis évaluant les facteurs pronostiques dans l'autogreffe de CSH du MM à propos de 130 patients, BO BJORKSTRAND avait montré que la réponse à la greffe de CSH serait meilleure et la survie sans progression de la maladie serait

bonne si âge inférieur à 45 ans. L'âge médian était de 49 ans avec des extrêmes allant de 27 à 64 ans. [262]

En Tunisie, sur une étude faite en 2009 sur 417 autogreffes par le centre national de greffe de moelle osseuse, l'âge médian des patients était de 38 ans avec des extrêmes de 8 à 62 ans. [260]

Dans une série de 2890 patients l'âge médian des patients autogreffés était de 56 ans, dans les registres français en 2010. [258]

Dans notre série de 24 patients, l'âge médian de nos patients était de 54 ans avec des extrêmes de 27 à 66 ans.

91.66% de nos patients étaient porteurs de MM, l'âge médian était de 56 ans.

Pour les deux autres patients, 1 avait un LNH et 1 avait une MDH, l'âge médian était de 27 ans (Tableau XIX)

A Casablanca, l'âge moyen était de 35 ans avec des extrêmes allant de 10 à 69 ans. [261]

Dans son étude publiée en 2013 en Pologne évaluant les facteurs pronostiques dans l'autogreffe des CSH du LNH à propos de 132 patients, ANNA CZYZ rejoint les résultats de BO BJORKSTRAND. L'âge médian était de 42 ans avec des extrêmes allant de 15 à 64 ans. [263]

Tableau XIX : Comparaison de la médiane d'âge avec les autres séries

Pays	Age médian
Etats-Unis	49 ans (27-64)
France	56 ans
Maroc (Marrakech)	54 ans (27-66)
Tunisie	38 ans (08-62)
Pologne	42 ans (15-64)
Casablanca	35 ans (10-69)

Dans notre étude, les résultats rejoignent ceux de la France, un peu supérieurs à ceux des Etats-Unis, ceux de la Pologne et largement supérieurs à ceux de la Tunisie.

Dans notre série, nous pouvons expliquer les extrêmes d'âge par la particularité du myélome multiple liée à notre contexte. En effet, dans le bassin méditerranéen, le myélome

multiple est observé avec une fréquence non négligeable chez le sujet jeune moins de 50 ans. Trois malades de notre série étaient âgés de moins de 40 ans.

b. Allogreffe :

D'après *Daniel et al., 1998* et *Schulenburg et al., 2005*, l'âge du receveur semble influencer la reconstitution immunitaire en relation avec la fonction thymique qui diminue avec l'âge à partir de 25 ans. [264]

En Algérie, l'âge moyen des patients était de 23 ans avec des extrêmes de 03 à 60 ans. [259]

En Tunisie, une étude rétrospective unicentrique enrôlant 25 patients pédiatriques traités par allogreffe de cellules souches hématopoïétiques dont l'âge médian était de 4 ans avec des extrêmes de 7 mois à 12 ans. [260]

En France selon les registres nationaux français, 887 cas en 2010 d'allogreffes étaient réparties en deux groupes : inférieur à 18 ans et supérieur ou égal à 18 ans. [258]

641 allogreffes était d'un âge médian de 48 ans (groupe1) contre 246 allogreffes classées moins de 18 ans (groupe2).

Dans notre série, l'âge médian de nos patients était de 07 ans avec des extrêmes de 01 à 34 ans.

Nos données sont comparables aux données de la Tunisie (Tableau XX).

Aucune explication ne peut être donnée à cette moyenne d'âge puisque le recrutement des malades a été fait d'une manière arbitraire. Dans nos premières allogreffes, nous avons été épaulés par une équipe Italienne de Genova qui pratique beaucoup plus les allogreffes chez des enfants.

Tableau XX: comparaison de la médiane d'âge avec les autres séries.

Pays	Age médian
Algérie	23 ans (03-60 ans)
Tunisie	04 ans (07mois-12 ans)
France	G1 = 48 ans ; G2 < 18 ans
Notre série (CHU Marrakech)	07 ans (01-34 ans)

1.3. Sexe :

a. Autogreffe :

L'étude rétrospective de 130 patients faite par BO BJORKSTRAND aux Etats-Unis en 2015 sur les facteurs pronostiques dans l'autogreffe du Myélome multiple avait montré aussi que le sexe masculin était un facteur prédictif d'une meilleure survie et d'une survie sans progression de la maladie. 93 patients sont des hommes et 37 sont des femmes. [262]

Dans les autres études, on n'a pas retrouvé ces données.

Dans notre série de 24 patients autogreffés, on note une prédominance masculine. Ceci a été retrouvé aussi dans l'étude de BO BJORKSTRAND. Cela peut être expliqué par la prédominance du myélome multiple chez les sujets masculins à Marrakech. (Tableau XXI).

Tableau XXI : Comparaison de la répartition du sexe avec les autres séries

Pays	Nombre de patients	Pourcentage des hommes	Pourcentage des femmes
Etats-Unis (BO BJORKSTRAND)	130	71,54%	28,46%
Maroc (CHU Marrakech)	24	66,67%	33,33%

b. Allogreffe :

Chez les enfants, les études s'intéressant à la reconstitution héματο-immunologique après la greffe de CSH sont rares. [265]

En Tunisie, une étude rétrospective unicentrique enrôlant 25 patients pédiatriques traités par allogreffe de cellules souches hématopoïétiques a montré que la reconstitution cellulaire est nettement plus importante chez les filles que chez les garçons, le sexe féminin semble influencer positivement la reconstitution immunitaire. Les patients sont répartis en 16 garçons contre 9 filles, sex-ratio H/F est à 1.7. [260]

En Algérie, sex-ratio est de 1.3 sur un nombre d'allogreffes de 915. [259]

Dans notre série, l'étude de la répartition selon le sexe a montré une égalité des deux

sexes. Sex-ratio H/F était à 1 (Tableau XXII).

Tableau XXII : Comparaison de la répartition du sexe avec les autres séries.

Pays	Nombre de patients	Pourcentage des garçons	Pourcentages des filles	Sex-ratio
Tunisie	25	64%	36%	1.7
Algérie	915	-	-	1.3
Notre série(CHU Marrakech)	12	50%	50%	1

2. Données cliniques :

2.1. Délai entre diagnostic et la greffe de moelle osseuse :

a. Autogreffe :

Dans son étude publiée en 2012 en Italie à propos de 290 patients évaluant l'impact d'une autogreffe précoce (inférieure ou égale à 12 mois après diagnostic) ou retardée (>12 mois après diagnostic) sur la survie globale et la survie sans progression, Shaji K. Kumar dont le délai moyen était de 5.3 mois pour l'autogreffe précoce et 44 mois pour l'autogreffe tardive et avait montré qu'il n'y avait pas de différences statistiquement significatives.[266]

Ceci est corrélé à l'étude faite par Neil C. Dunavin en 2013 en Colombie, qui a montré qu'il y avait une augmentation de la survie sans progression mais sans valeur statistiquement significative, sans impact sur la survie globale. Par contre, il a trouvé que chez les patients à haut risque : anomalies chromosomiques, patients ayant reçus deux ou plusieurs lignes thérapeutiques, le score ISS stade III, et un statut hématologique pré-greffe moins d'une bonne réponse partielle, il y avait une différence statistiquement significative prouvée dans la survie sans progression pour les patients ayant bénéficié d'une autogreffe précoce.[267]

Dans notre série, le délai moyen des patients ayant bénéficié d'une greffe autologue était de 12,75 mois avec des extrêmes allant de 7 à 20 mois. 54% de nos patients avaient bénéficié d'une autogreffe précoce contre 46% ayant bénéficié d'une autogreffe retardée.

On n'a pas pu comparer nos résultats de ce paramètre avec ceux de la littérature puisque certaines données, notamment les anomalies chromosomiques n'ont pas été répertoriées dans les dossiers.

b. Allogreffe :

Dans son étude publiée en 2013 en Allemagne à propos de 1179 patients âgés entre 18 à 60 ans sur l'allogreffe précoce versus l'allogreffe tardive, Gerhard Ehninger n'a pas pu démontrer un bénéfice de survie.[268]

Dans notre série, le délai moyen des patients ayant bénéficié d'une greffe allogénique était de 17,5 mois avec des extrêmes allant de 3 à 96 mois.

75% de nos patients avaient bénéficié d'une allogreffe précoce contre seulement 25% ayant bénéficié d'allogreffe tardive au-delà de 17,5 mois.

Nous expliquons ces données par les particularités de chaque pathologie en matière de diagnostic et du délai des différents bilans pré-greffes.

2.2. Indications de la greffe de moelle osseuse :

a. Autogreffe :

Dans la base de données européenne ProMISe en 2010, les MM et LNH étaient les principales indications d'autogreffe et représentaient respectivement 40,9% et 38,4% avec une baisse continue des indications pour les hémopathies malignes (LAM++). 17% représentaient des indications non hématologiques notamment les maladies auto-immunes. Un pourcentage de 1,6% était noté pour les tumeurs solides (par exemple : cancer du sein).[269]

En Algérie, les indications thérapeutiques étaient dominées par les MM et LNH et représentaient 37%, la MDH représentait 17,5 % des indications contre un faible pourcentage respectivement de 5,5% et 2% pour les hémopathies malignes (LLC/LA).[259]

En Tunisie, les indications thérapeutiques majeures étaient pour le MM avec un pourcentage de 67%, suivi par les LNH et MDH qui représentaient respectivement 17% et 15%.

Les hémopathies malignes à type de LAM ne représentaient qu'un faible pourcentage de 1%. [260]

Au CHU Ibn Rochd de Casablanca, les indications majeures étaient pour le MM avec un pourcentage de 56,3%, suivi par les MDH et LNH qui représentaient respectivement 27,5% et 14,9%. Les tumeurs solides à type de rhabdomyosarcome ne représentaient que 1,2%. [261]

Dans notre série au CHU Mohammed VI de Marrakech, les principales indications thérapeutiques de l'autogreffe étaient majorées par le MM qui représentait 91,66% contre seulement 4,17 % pour les LNH et MDH (Tableau XXIII).

Tableau XXIII : Comparaison de la répartition des autogreffes selon les pathologies avec les autres séries.

Pays	Types de pathologies			
	MM	LNH	MDH	Autres
France	40,9%	38,4%	--	17% MAI
Algérie	37%	37%	17,5%	7,5% LLC+LA
Tunisie	67%	17%	15%	1% LAM
Notre série	91,66%	4,17%	4,17%	--
Casablanca	56,3%	14,9%	27,5%	1,2% Rhabdomyosarcome

Nos résultats rejoignent ceux de la littérature pour le MM qui est la principale indication thérapeutique de l'autogreffe.

Pour les autres indications notamment les LNH et MDH, nos résultats ne sont pas comparables à la littérature. Ceci peut être en relation avec le taux d'incidence élevé de ces pathologies dans leurs études d'une part, et d'une autre part le laboratoire de cryobiologie n'était pas disponible durant la période d'étude, ce qui explique la faible fréquence des lymphomes et des maladies d'Hodgkin dans notre série.

b. Allogreffe :

Dans la base de données européenne de ProMiSe en 2010, les indications d'allogreffe étaient dominées par les hémopathies malignes et représentaient 71,3% dont les principales étaient les LAM et LAL qui représentaient respectivement 31,2% et 14,5%. Pour les LMC ils ne

représentaient que 3,2% des indications. Les myélodysplasies représentaient 9,5%. Les indications d'allogreffe pour les MM et LNH étaient respectivement 8,3% et 10,5%. Il n'y a presque plus de place pour les tumeurs solides qui ne représente qu'un très faible pourcentage de 0,4%.[269]

En Algérie, les indications thérapeutiques étaient dominées par les affections malignes qui représentaient 75% dont les principales étaient les LMC, LAM, LAL qui représentaient respectivement 40,4%, 35% et 14%. Les autres affections malignes notamment les LNH et MMreprésentaient respectivement seulement 3,3% et 3,15%, les SCID ne représentaient dans cette étude que 1,57%, puis en dernier la LLC.[259]

Pour les affections non malignes soit un pourcentage de 25% dont l'indication d'allogreffe principale était l'aplasie médullaire sévère et représentait 75,3% suivie de Fanconi de 17% puis 10% pour les hémoglobinopathies à type de bêta-thalassémie.[259]

En Tunisie, la principale indication était la leucémie aigüe qui représentait 39% des allogreffes suivie par les aplasies médullaires avec un pourcentage de 33%, puis viennent respectivement la LMC (9%), le MM(6%), les hémoglobinopathies(3%), les myélodysplasies (2%), LNH et maladies métaboliques (1%).[260]

Dans notre série au CHU Mohammed VI de Marrakech, 33,3% étaient des aplasies médullaires suivies en deuxième par les SCID avec un pourcentage de 25% et 16,7% pour les hémoglobinopathies à type de bêta-thalassémie, et seulement 3 cas d'hémopathies malignes : LAM/LMC/LAL (Tableau XXIV).

Tableau XXIV: Comparaison de la répartition des allogreffes selon les pathologies avec les autres séries.

Pays	Types de pathologies									
	HM				SCID	Bêta-thalassémie	AM	MD	MM	LNH
LAM	LAL	LMC	LLC							
France	31,2%	14,5%	3,2%	-	-	-	-	9,5%	8,3%	10,5%
Algérie	26,25%	10,5%	30,3%	-	1,17%	4,5%	18,8%	-	2,36%	2,47%
Tunisie	39%		9%	-	-	3%	33%	2%	-	1%
Notre série	8,33%	8,33%	8,33%	-	25%	16,7%	33,3%	-	-	-

Nos résultats rejoignent ceux de la Tunisie pour l'indication de l'allogreffe dans l'aplasie médullaire qui était dans notre étude la principale.

Mais ne rejoignent pas les autres études en ce qui concerne l'indication des hémopathies malignes notamment les LAM et LAL qui étaient supérieurs. Cette différence peut être expliquée par la difficulté de leurs prises en charge, les effets secondaires engendrés par les fortes doses de chimiothérapie administrées avant la greffe de cellules souches peuvent être trop graves pour les personnes âgées de plus de 55 ans, et la non disponibilité de certains médicaments (défibrotide, ou certains antiviraux) durant la période d'étude.

2.3. Nombre de lignes thérapeutiques reçus avant la greffe :

a. Autogreffe :

Dans son étude publiée en 2015 aux Etats-Unis portant sur les facteurs pronostiques dans l'autogreffe du MM, Bo Björkstrand a montré que les patients ayant reçu une seule ligne thérapeutique avaient une meilleure survie. [262]

L'étude était réalisée sur 130 patients dont 43,8% avaient reçu une seule ligne thérapeutique avant la greffe et 56,2% avaient reçu deux ou plusieurs lignes thérapeutiques.

Ceci a été démontré également dans les études de Selby, Harousseau. [270-271]

Dans une autre étude publiée en 2013 par Anna Czyz sur les facteurs pronostiques dans l'autogreffe du LNH a montré que deux ou plusieurs lignes thérapeutiques avant la greffe étaient

un mauvais facteur pronostic en terme de survie globale et de survie sans progression.[263]

Dans notre série, 70.83% des patients (17 cas) avaient reçu une seule ligne thérapeutique dont 14 étaient en RC et 3 étaient en RP, contre 29,17% (7cas) avaient reçu deux ou plusieurs lignes thérapeutiques dont 3 étaient en RC et 4 étaient en RP.

b. Allogreffe :

Les malades de notre série présentant une hémopathie maligne (LAL, LAM, LMC) ont tous reçus deux lignes thérapeutiques. Le malade porteur de LMC était greffé en rémission partielle. Les deux autres leucémies aiguës étaient en rémission complète Malheureusement ils sont tous décédés par des complications infectieuses ou neurologiques liées probablement au régime de conditionnement qui était myéloablatif. Nous pensons remédier à cela lors de nos prochaines allogreffes en utilisant des régimes à conditionnement atténué.

2.4. Etat hématologique des patients en pré-greffe :

a. Autogreffe :

L'état de réponse au traitement immédiatement pré-greffe a eu un impact très significatif sur la survie et la survie sans progression, avec de meilleurs résultats pour les patients en rémission complète ou partielle par rapport aux patients insensibles à la chimiothérapie classique.

16 patients étaient en rémission complète soit 14% des cas, 60% des cas soit 73 patients étaient en rémission partielle, 9 avaient une maladie stable qui ne répondait pas au traitement, 29 avaient une maladie qui était progressive ou réfractaire au traitement primaire et pour les 3 derniers patients état de la maladie n'était pas évaluable ceci était rapporté dans l'étude de Bo Björkstrand. [262]

Ceci a été démontré aussi par Jean-Luc Harousseau que ce paramètre est également important plus tôt au cours de la maladie, le taux de RC étant significativement plus élevé pour les patients répondant à leur premier traitement d'induction de rémission.[272]

Aussi dans l'étude d'Anna Czyz publiée en 2013 en Pologne sur 132 patients atteints de LNH que le statut de la malade en pré-greffe avait un impact significatif sur la survie globale et la survie sans progression.[263]

Dans notre série, dix-huit de nos patients étaient en rémission complète (RC) soit 75% des cas contre seulement 25%(6 patients) qui étaient en rémission partielle (RP).

Nos résultats ne rejoignent pas ceux publiés aux Etats-Unis. On a pu obtenir un meilleur taux de RC en pré-greffe pour la majorité de nos patients, ce qui va nous donner de meilleurs résultats en terme de survie globale et survie sans progression.

b. Allogreffe :

Cette donnée n'a pas pu être analysée avec celles de la littérature puisque nous notons dans notre série une variabilité des pathologies à savoir les déficits immunitaires (SCID, déficit HLA classe II), l'aplasie médullaire, les thalassémies et les hémopathies malignes (LMC, LAL, LAM).

3. Greffon :

Les paramètres caractérisant le greffon sont difficilement comparables, en effet les techniques de manipulation de la moelle sont différents selon les centres ainsi que les techniques de culture.

De nombreux paramètres influencent la reprise médullaire après autogreffe de moelle :

- Certains sont indépendants de la qualité du greffon telle que la nature du conditionnement chimiothérapeutique.
- D'autres sont directement dépendants de la qualité du greffon. Il s'agit notamment du degré de dilution sanguine au moment du prélèvement, des méthodes de manipulation du greffon (qualité du Ficoll, purge ex vivo ou non) et des méthodes de congélation ou de décongélation.

3.1. Numération des globules blancs et collecte des CD34 :

La numération des GB périphériques a été précédemment utilisée comme indicateur du jour optimal pour la récolte.

Les critères de récolte changés au cours de l'étude, initialement tous les patients ont bénéficié d'une cytophérèse lorsque la numération des GB était supérieure à 1×10^6 / ml. Cependant, après 6 mois, il est apparu que les numérations de CD34 donnaient une meilleure indication de la qualité du produit d'aphérèse, une valeur de 8×10^3 cellules CD34 + / ml a été utilisée comme indication de récolte. Dans une seule cytophérèse, on commençait à récolter aux jours 9 et 10 lorsque le nombre de GB commençait à augmenter, et une moyenne de deux comptes (plage 1-7) a été effectuée pour chaque patient. Il a été démontré qu'il existe une faible corrélation entre le nombre de GB le jour de la récolte et le nombre total de cellules CD34 + présentes. En revanche, on a trouvé que le nombre absolu de cellules CD34 + circulantes était en corrélation étroite avec le rendement en cellules CD34 + du produit de cytophérèse correspondant rapporté par S.Armitage dans une étude publiée à Londres sur la collecte de CD34 à partir de cellules souches périphériques sur 95 patients.[273]

Ces résultats indiquent que le temps optimal pour la collecte de CSH périphériques est lorsqu'un échantillon de sang périphérique contient au moins 20×10^3 cellules CD34 + circulantes / ml.

Des résultats similaires ont été rapportés par Schots et al. [274]. Mais avec moins de patients et aucune indication de tentative de limiter le nombre de procédures de cytophérèse réalisées. Haas et al [14] ont également démontré une corrélation claire entre les cellules CD34 circulantes et leur nombre dans la récolte résultante, mais dans une population qui se composait entièrement de patients atteints de lymphome.

Dans notre série, nous n'avons pas pu comparer avec les données de la littérature pour des contraintes techniques, on n'utilisait pas la numération des CD34 avant la procédure (en effet cette technique était utilisée pour une minorité des malades en début de notre activité de greffe).

En ce qui concerne la numération des GB avant la procédure, pour tous nos patients la numération des GB était faite avec des résultats proches ou supérieurs aux résultats de référence mais il a été démontré dans la littérature qu'elle n'avait pas de valeur statistiquement significative.

3.2. Jour de la collecte :

Dans son étude comparative publiée en 2014 au Brésil à propos de 65 patients, sur la mobilisation et la collecte des CD34 dans l'autogreffe des CSH chez deux groupes : Groupe 1 avait reçu 15 microgrammes de G-CSF / kg de poids corporel et Groupe 2 avec une dose de 10 microgrammes de G-CSF / kg, par rapport au nombre de procédures de cytophérèse nécessaires pour obtenir une collecte minimale de 3×10^6 CD34 + Cellules / kg de poids corporel. Kátia Aparecida de Brito avait conclu que le nombre de cytophérèse était significativement réduit chez le groupe 1. [275]

Dans notre étude, tous nos patients avaient reçu la dose de 15 microgrammes /kg de poids corporel de G-CSF. Nous avons constaté un échec de 37,5 % de la 1^{ère} collecte de CSH, ceci peut être expliqué par l'âge des patients qui était supérieur à 60 ans chez la majorité de ces patients, ou que certains malades étaient en rémission partielle.

Ceci a été démontré par une étude publiée par M. Zarrouk en Tunisie en 2013, 36 tentatives de recueil des CSH ont été réalisées chez 31 patients (19 hommes et 12 femmes). L'âge moyen était de 57 ans (33-64 ans). 7 échecs de recueil sur 31 tentatives étaient observés. Deux patients étaient recueillis par une deuxième tentative. Les deux facteurs de risque d'échec de recueil des CSH étaient l'âge avancé (> 60 ans) et la forme péjorative du myélome (ISS = 3), cependant ni la réponse avant la mobilisation ni le type de myélome multiple ne paraît influencer le recueil des CSH.[276]

4. Complications :

4.1. Toxicité hématologique :

a. Cinétique de récupération hématopoïétique dans l'autogreffe :

a.1. *Lignées blanches :*

Dans notre étude, les récupérations de 500 polynucléaires neutrophiles par mm³ et de 1.000 globules blancs par mm³ se sont effectuées dans les délais médians respectifs de 07 jours (extrêmes : 5-12) et de 07 jours (extrêmes : 6-10).

Ces cinétiques de reprise de l'hématopoïèse concernant les lignées blanches semblent légèrement être plus courtes que celles rapportées dans la littérature :

Au CHU Ibn Rochd de Casablanca, les numérations de 1.000 globules blancs par mm³ ont été atteintes dans un délai médian de 9,5 jours (extrêmes : 4-25).[261]

Gorin et coll. dans son étude chez 8 malades rapportent des numérations de 1.000 globules blancs par mm³ dans un délai médian de 17 jours (extrêmes : 12-19). [277]

Herve et coll. après avoir regroupé les premiers résultats d'un protocole régional concernant 10 cas d'autogreffes chez des patients atteints de pathologies hématologiques multiples, notent que 05 patients ont retrouvé 1.000 globules blancs par mm³ dans un délai médian de 08 à 15 jours, et 05 dans un délai de 22 à 34 jours. [278]

Les mêmes auteurs ont publiés une étude sur 12 patients porteurs de LMNH qui récupèrent 1.000 globules blancs par mm³ dans un délai médian de 12 jours (extrêmes : 9-19). [279]

Nous avons pu remarquer que le délai de sortie d'aplasie en ce qui concerne les lignées blanches semble être beaucoup plus court pour le myélome multiple (délai médian de la neutropénie égal à 07 jours) ayant reçu un conditionnement par du Melphalan à haute dose. Ce délai de sortie d'aplasie pour les LNH et MDH était respectivement de 10 jours et 12 jours avec un conditionnement par le protocole BEAM. Cette répercussion de la pathologie sous-jacente et

du conditionnement a été remarquée par quelques auteurs :

BEELLEN et coll. rapportent dans une étude de 20 patients atteints de LAM traités par Busulphan et cyclophosphamide suivis d'autogreffe une médiane de récupération de 500 polynucléaires neutrophiles par mm³ égale à 30 jours. [280]

a.2. Lignées plaquettaires :

La récupération de 50.000 plaquettes par mm³ s'est effectuée dans notre étude dans un délai médiane de 9,5 jours (extrêmes : 05-16 jours ; moyenne : 10,4 jours).

Dans une étude rétrospective sur 30 autogreffes de moelle osseuse au centre universitaire de DIJON, la récupération de 50.000 plaquettes par mm³ s'est effectuée dans un délai médian de 29 jours (extrêmes : 10-370 jours ; moyenne : 67) avec 04 patients ayant une durée de thrombopénie supérieure à 200 jours. [281]

LAPORTE et coll. rapportent dans une étude de 14 patients atteints de leucémie aiguë autogreffés après un conditionnement par irradiation, un délai médian de récupération de 50.000 plaquettes par mm³ égal à 90 jours. [282]

BEELLEN et coll. donnent des médianes de récupération de 50.000 plaquettes par mm³ de 63 jours chez 20 patients leucémiques traités par Busulphan et autogreffe. [280]

VIZANI et coll. et BRANDWEIN et coll. remarquent que les patients ayant reçu un conditionnement incluant l'irradiation ont des récupérations plaquettaires plus lentes.[283-284]

Au CHU de Casablanca, la moyenne de récupération plaquettaires était de 21 jours (extrêmes : 7-94).[261]

Cependant, la moyenne de récupération plaquettaire de 10,4 jours dans notre série paraît courte comparé à celles retrouvées dans la littérature, malgré nos faibles effectifs dans chaque catégorie.

Nous pouvons expliquer cela notamment par le type de pathologie et l'utilisation des plaquettes de cytophérèse. A noter que dans notre série, nous n'avons pas eu de cas de leucémies aiguës.

b. Cinétique de récupération hématopoïétique dans l'allogreffe :

La reconstitution hémato-immunologique en post allogreffe de CSH a toujours suscité plusieurs chercheurs et a été largement étudiée surtout chez les adultes. Par contre chez les enfants, les études s'intéressant à la reconstitution hémato-immunologique après la greffe de CSH sont rares.[285].

Dans notre série, certains paramètres notamment de biologie moléculaire n'ont pas pu être évalués, puisque nous ne disposons pas de ces techniques dans notre CHU.

4.2. Toxicité extra-hématologique :

La toxicité extra-hématologique est le facteur limitant de la chimiothérapie intensive associée à l'autogreffe.

Rappelons que les toxicités les plus importantes sont les toxicités cardiaques (dont les principaux agents responsables sont les Antracyclines et la Cyclophosphamide à haute dose), la maladie veino-occlusive du foie (surtout après conditionnement incluant l'irradiation), les complications pulmonaires, les mucites, enfin la toxicité vésicale de la cyclophosphamide.

Il semble cependant dans la littérature, que l'irradiation qui demeure en matière de conditionnement le plus efficace en terme de tumoricidité, reste malheureusement le plus toxique :

La principale toxicité du conditionnement Cyclophosphamide et irradiation chez 14 malades porteurs de leucémie aiguë et autogreffés étudiés par LAPORTE et coll. est hépatique avec 2 MVO ayant entraîné le décès et une cirrhose biliaire primitive ayant régressé spontanément.[282]

KORBLING et coll. notent 5,8% de décès toxiques. [286]

GORIN et coll. dans une étude de 263 LAM conditionnées par TBI et chimiothérapie rapportent des complications pulmonaires dans 2% des cas, des maladies veino-occlusives du foie dans 2,6% des cas, des complications cardiaques dans 3% des cas, ces toxicités ayant entraîné 21 décès. [287]

a. Autogreffe :

Dans notre étude, les différents conditionnements ont été relativement bien tolérés.

Tout d'abord, il n'y a eu aucun décès toxique ; nous n'avons pas observé de complications cardiaques ni hépatiques notamment pas de MVO ; 7 complications à type de mucite (6 HDM, 1 BEAM) qui ont régressé sous traitement symptomatique; 3 complications pulmonaires à type de pneumopathie interstitielle secondaire à l'administration du Melphalan qui ont régressé aussi sous traitement sans séquelle; tous nos patients ont présenté une toxicité cutanée à type d'alopecie.

Dans l'étude rapportée par le Chu de Casablanca sur 87 autogreffes, les toxicités analysées chez 72 patients étaient marquées par la mucite (72%), suivies par des complications digestives à type de diarrhées (50%), herpès labial dans 10% des cas, infection urinaire dans 4% des cas et infection pulmonaire dans 5,5% des cas.[261]

Dans une étude rapportée par le centre universitaire de DIJON sur 30 autogreffes, les toxicités étaient marquées par les complications pulmonaires à type de pneumonie interstitielle diffuse avec un œdème de Quincke majeur traité sans séquelles, puis par les complications cardiaques notées chez 2 patients conditionnés par CBV, 2 complications hépatiques sans MVO à type d'hépatite toxique, 6 complications à type de mucite sévère répondant au traitement symptomatique.[281]

GORIN et coll. en dans leur étude de 12 patients atteints de proliférations malignes remarquent une très bonne tolérance du conditionnement; les fortes doses de cyclophosphamide n'ayant entraîné aucune complication cardiaque ou autre. [287]

Par contre, les mêmes auteurs, avec le même conditionnement notent une prédominance des complications cardiaques (4 sur 12 malades avec 1 décès). [278]

MASCRET et coll. notent que les hautes doses de Melphalan administrées chez 18 patients greffés pour LMNH n'ont pas de toxicité sévère, aucune complication cardiaque, rénale ou neurologique, seulement 3 cas de mucite. [288]

b. Allogreffe :

Dans notre étude, on a observé 4 complications hépatiques à type de MVO secondaire au conditionnement dont un malade était décédé et pour les autres on note une amélioration clinique et biologique après traitement symptomatique, 7 complications cutanées à type de GVH dont 5 ont été classées en GVHA et 2 en GVHC dont un patient était décédé, 3 complications à type de mucite, et 3 complications urinaires à type de cystite hémorragique et deux complications pulmonaires à type de pneumopathie interstitielle diffuse dont une était à CMV.

Il a été rapporté que les patients recevant un traitement cytoréducteur à forte dose avaient une incidence plus élevée de la MVO que ceux recevant une thérapie à faible dose. Ces dernières années, la tendance a été de donner des doses encore plus élevées de thérapie cytoréductrice aux patients à risque accru de récurrence de malignité après greffe de moelle. Les régimes à doses élevées réduisent l'incidence de la rechute tumorale, mais sont associés à des complications hépatiques, rénales, cardiaques et pulmonaires. D'autres facteurs ont été rapportés comme augmentant le risque de MVO: augmentation de l'âge, certains diagnostics, traitement œstroprogestatif, traitement par amphotéricine pendant le traitement cytoréducteur, traitement par le méthotrexate après la transplantation et séropositivité pour le cytomégalovirus.

Ceci a été rapporté dans l'étude publiée par George B. sur MVO du foie après transplantation de moelle osseuse à propos de 355 patients, ils ont noté 53,52% de MVO.[289]

Dans une étude publiée aux Etats-Unis par Richard A. sur l'analyse facteurs de risque de la survenue de la GVH après allogreffe sur 446 patients. 35% des patients avaient développé une GVH grade II-IV dont 16% ont développé GVH grade III-IV et seulement 2% grade IV. Il a été démontré que l'âge augmenté du receveur et du donneur et un donneur et un sexe mismatch entre donneur et receveur étaient significativement associés au risque de développement d'une GVH grade II-IV. Dans la même étude, Richard A. a trouvé que le statut pré-greffe et le type de conditionnement reçu augmentait significativement le risque de développer une GVH.[290]

Dans une étude publiée en 2014 en France par M.Bourdalin sur 91 patients allogreffés, 49 ont bénéficié d'une prévention de la mucite par un protocole de soins standard en bains de

bouche 4 fois par jour, et 42 ont reçu une prévention de la mucite par la solution ionique expérimentale, avec un nombre moyen de 4 bains de bouche quotidiens. Les conditionnements reçus étaient l'association de fludarabine/melphalan et cyclophosphamide/busulphan, 69% des patients ont développé une mucite et 36% ont développé une mucite sévère (grade supérieur ou égal à 3). Cette étude a conclu que les facteurs de risque significatifs étaient le recours à un conditionnement myéloablatif et la prophylaxie de GVH incluant le méthotrexate. Il a été démontré également que le type de prévention (bains de bouche standard versus solution ionique) n'influençait pas l'incidence de la mucite. [291]

5. Infections et épisodes fébriles :

La survenue des complications infectieuses est due à la profondeur et à la durée de la granulopénie et à l'intensité de l'immudépression induites par les conditionnements pré-greffe.

L'immunosuppression cellulaire induite par les conditionnements (irradiation, corticoïdes, cyclophosphamide) pendant plusieurs mois après la greffe peut entraîner des complications infectieuses tardives. [292]

Nous avons étudié la survenue des épisodes fébriles dans la période post-greffe immédiate ; il s'agit essentiellement de complications infectieuses liées à la neutropénie profonde.

La gravité potentielle immédiate de toute infection chez le patient neutropénique et particulièrement chez les patients greffés de moelle fait considérer la survenue d'épisode fébrile comme une infection microbienne jusqu'à preuve du contraire.

Le traitement anti-infectieux est donc généralement débuté très rapidement après la survenue du premier épisode fébrile, sans attendre les preuves microbiologiques. Il sera éventuellement adapté en fonction des ces résultats microbiologiques. [293]

La survenue d'un nouvel épisode fébrile (alors que le patient est déjà sous antibiotiques) fera modifier l'antibiothérapie ; l'utilisation d'antifongiques par voie générale (Amphotéricine B)

est très fréquente chez ces patients, même sans preuve mycologique.

Le traitement anti-infectieux (antibiotiques IV plus ou moins Ampho B, plus ou moins anti-viraux) est généralement poursuivi jusqu'à sortie de l'aplasie (PNN supérieur à 500 par mm³).

5.1. Durée de la fièvre :

Dans notre série de 36 patients, 94,44 % ont présenté de la fièvre durant leur aplasie avec un nombre moyen de jours de fièvre de 6,64 jours par greffe (extrêmes : 4-15).

Ceci était identique à une étude publiée par un centre universitaire de DIJON sur 30 greffes dont le nombre médian de jours de fièvre était de 06 jours (extrêmes : 2-21). [281]

BEELLEN et coll. dans leur étude chez 20 patients autogreffés remarquent que tous les patients ont été fébriles avec une médiane de jours de fièvre égale à 08 jours. [280]

5.2. Nombre d'épisodes fébriles :

34 épisodes fébriles ont été rapportés dans notre étude.

A casablanca, la fièvre a été retrouvée chez tous les patients.[261]

L'état hématologique pré-greffe a été totalement indépendant des infections.

Dans une étude rapportée par le centre universitaire de DIJON, 82 épisodes fébriles ont été notés avec une médiane de 02 épisodes fébriles par greffe. Par ailleurs, l'utilisation de flux laminaire ne fait pas diminuer la fréquence de survenue des épisodes fébriles et leur durée.[281]

5.3. Types d'infections :

52,9% des complications infectieuses dans notre étude ont été des foyers déterminés et 2,95% des septicémies, 41,2% ont été des fièvres d'origine indéterminée.

Ceci peut être s'expliquer soit par le fait que les traitements antibiotiques sont institués beaucoup plus rapidement dans les greffes, décapitant les preuves microbiologiques ou que la fièvre chez les malades greffés et souvent la conséquence des mucites occasionnées par les conditionnements chimiothérapeutiques.

1 greffe dans notre série a été émaillée d'une septicémie (2,95%), 4 d'une pneumopathie

(28,57%). On retrouve ces résultats dans la littérature :

GORIN et coll. notent dans une étude de 08 patients autogreffés 3 septicémies (37,5%).
[277]

MASCRET et coll. rapportent 7 septicémies sur 18 autogreffes (38,8%). [288]

Enfin BEELEN et coll. retrouvent 1 septicémie chez 08 patients autogreffés leucémiques sur les 20 autogreffes étudiés. [280]

KIRK et coll. analysent les complications infectieuses précoces survenues au cours de 35 autogreffes ; ils retrouvent 7 pneumopathies, aucune ne pourra être documentée malgré les investigations. [293]

En ce qui concerne les pneumopathies dans notre série, aucun cas d'aspergillose documenté n'a été noté.

Tous nos patients ont reçu leurs greffes sous flux laminaire.

Dans l'étude publiée par le centre universitaire de DIJON, ils ont eu 1 cas d'aspergillose parmi les 7 greffes faites hors flux laminaire, et 6 sur 23 patients ayant reçu leurs greffes sous flux laminaire ont fait des pneumopathies, aucune aspergillose n'a été notée. [281]

La faible incidence des aspergilloses dans cette série comparée à la fréquence habituelle des aspergilloses après chimiothérapie lourde en chambre conventionnelle est probablement en rapport avec l'utilisation de flux laminaire :

Ceci est confirmé par SHERERTZ et coll. et par KESLEY et coll. qui ne notent aucune aspergillose après auto- et allogreffes faite sous flux. [294-295]

5.4. Documentation microbiologique :

Dans notre série, 29,41% des épisodes fébriles ont été documentés : 50% sont dus à des bactéries avec prédominance de Cocci Gram positif, 2 septicémies sur 10 sont dues au Staphylocoque epidermidis.

Dans l'étude faite à DIJON, 25% des épisodes fébriles ont été documentés dont 75% sont dus à des bactéries avec une grande prédominance des Cocci Gram +, 9 septicémies sur 11 sont

dues au Staphylocoque epidermidis. [281]

WINSTON et coll. dans un article sur les infections survenant après les autogreffes font remarquer que de nombreux centres de transplantation ont constaté un déclin des infections bactériennes à Gram+ et notamment des infections à Staphylocoque ayant certainement pour point de départ le cathéter central utilisé pour l'administration des médicaments. De plus, ils constatent une baisse des infections fongiques (dans notre série, seulement 2 infections fongiques soit 20%). Ceci étant favorisé par l'utilisation de l'Amphotéricine B dans les fièvres persistantes. [296-297]

BEELLEN et coll. dans leur étude citée précédemment notent un total de 10 hémocultures sur 15 positives au Staphylocoque chez 08 patients. [280]

6. Résultats hématologiques :

6.1. Résultats immédiats :

a. Autogreffe :

Dans notre étude, la réponse tumorale immédiate post-greffe a été satisfaisante avec 87,5% de rémission complète. Aucun décès toxique lié à la procédure n'a été noté.

Ce qui prouve une efficacité certaine de la méthode.

A casablanca, 88,5% de rémission complète contre 8% de rechute et 3,5% de décès. [261]
La réussite de la greffe post-transplantation est liée au statut pré-transplantation. Ceci était soutenu par l'étude publiée par Lalit Kumar en 2014 en INDE, l'évaluation de la réponse post-transplantation (jour 100) a révélé: 109 en Réponse complète (57,1%), 33 en bonne réponse partielle (17,3%), 25 en réponse partielle (13,1%) et 8 en maladie stable (4,2%). Parmi 109 patients avec une RC : 35 patients (32,1%) étaient en RC pré-greffe, ceux-ci ont continué à rester en RC après la greffe. Sur les 74 patients restants, 35 (32,1%) avaient une bonne réponse partielle, 30 (27,5%) avaient une réponse partielle et 8 (7,3%) avaient une maladie stable et un patient avait une maladie progressive, ceux-ci ont été induits en RC post-transplantation.[298]

Dans une étude publiée à DIJON sur 30 autogreffes, le taux de rémission complète représentait 82% des cas. [281]

En effet, l'alourdissement du conditionnement pré-greffe permet d'obtenir des régressions tumorales qui n'étaient pas possibles avec des doses conventionnelles de chimiothérapie : c'est l'effet dose.

Cela a été démontré à plusieurs reprises :

FREI et CANELLOS obtiennent une augmentation des taux de réponse chez des patients porteurs de lymphomes et de cancers du poumon à petites cellules traités avec des doses plus élevées de chimiothérapie. [299]

L'intensification massive du conditionnement chimiothérapique suivie d'autogreffe de moelle permet d'obtenir des résultats supérieurs à ceux de la chimiothérapie conventionnelle :

APPELBAUM et coll. mentionnent des résultats supérieurs obtenus avec de hautes doses de chimiothérapie suivies d'autogreffes dans les LNH. [300]

De nombreuses autres expériences confirment l'efficacité de l'administration de hautes doses de chimiothérapie suivies d'autogreffe.

Nos résultats en matière d'autogreffe sont satisfaisants.

b. Allogreffe :

En ce qui concerne les résultats thérapeutiques de l'allogreffe, nous avons quand même répertoriés 58,3 % de rémission complète. Nous ne pouvons pas comparer nos données à celles de la littérature vu le faible échantillon de notre série, et aussi le fait que nous n'avons réalisés que les greffes géno-identiques.

6.2. Résultats à long terme :

a. Autogreffe :

L'atteinte de la RC est un événement important dans le myélome et représente le principal marqueur substitutif pour la survie globale et la survie sans progression à long terme.

Dans une étude rapportée en Espagne par Juan José Lahuerta en 2008 sur 632 patients, la réponse post-transplantation a nettement influencé les résultats. Les patients en RC avaient une survie sans progression significativement plus longue (médiane, 61 vs 40 mois, $P < 10^{-5}$) et une survie globale (médianes non atteintes, $P = 0,01$) que les patients en très bonne réponse partielle, qui ont également eu des résultats un peu mieux par rapport aux patients en RP (Médiane, 34 mois, SG médiane, 61 mois, $p = 0,04$). La survie sans progression, la survie globale et l'influence de la réponse étaient semblables chez les plus âgés (âge 65 à 70 ans) et plus jeunes (âge < 65 ans) patients. Des résultats similaires ont été observés avec la réponse pré-transplantation, avec des tendances pour la survie sans progression ($P = 0,1$; $P = 0,05$) et la survie globale ($P = 0,1$; $P = 0,07$) chez les patients en RC par rapport à ceux en très bonne RP et en RP, respectivement. La réponse post-transplantation a été fortement influencée par la réponse avant la transplantation; Les améliorations de la réponse étaient associées à une survie prolongée.[301]

A Casablanca, 8% des patients (7 cas) ont rechuté dont 3 patients étaient décédés.

Pour ces 23 autogreffes sur 24 (1 patient a été perdu de vue), la médiane de suivi a été 22 mois avec des extrêmes allant de 08 à 32 mois, ce qui permet d'avoir une idée appréciable du devenir des malades en terme de survie et aussi de rechute.

Le suivi moyen a été de l'ordre de 22,5 mois avec 95,83% de survivants, la médiane de survie étant de 21 mois.

Parmi les 23 patients, 21 étaient en RC et 2 ont rechuté, 21 sont toujours en rémission complète.

Le taux de rémission complète persistante est de 95,7% avec une médiane de survie en

rémission de 24 mois.

Ces résultats sont comparables à ceux retrouvés dans la littérature, bien que la série de leurs malades fût hétérogène en terme de pathologie.

b. Allogreffe :

Dans notre série, les malades ayant été en rémission après allogreffe sont toujours en vie après un recul de 24 mois. Nous ne pouvons pas comparer ces données avec celles de la littérature vu le faible échantillon de notre série, et aussi à cause des pathologies traitées et également le fait que nous avons réalisés uniquement des greffes géno-identiques.

6.3. Résultats en fonction de la pathologie :

a. Autogreffe :

a.1. Pour les Myélomes Multiples :

Dans notre étude, 22 patients porteurs de MM ayant bénéficié d'autogreffes :

19 malades ont été mis en RC et sont restés en RC, 2 ont rechuté avec un décès et l'autre en deuxième RC après chimiothérapie, 1 a été perdu de vue.

Soit un taux de CCR de 95,2% (20 sur 21).

Dans l'étude faite à DIJON, 5 patients étaient porteurs de MM dont 1 était mis en RC mais a rechuté, 3 patients sont stabilisés, 1 est décédé en progression tumorale. [281]

Dans cette étude publiée en 2014 par Lalit Kumar en Inde sur 191 patients atteints de MM, 57,1% des patients ont obtenu une RC post-transplantation. La survie médiane sans progression et globale des patients en RC est de 107 mois et 204 mois, respectivement. Ceci était plus élevé que ceux avec très bonne réponse partielle, et la réponse partielle.[298]

a.2. Pour le LNH et MDH :

On avait un seul cas de LNH et un seul cas de MDH, les deux patients ont été mis en RC et sont restés en RC. Nous ne pouvons pas comparer cette donnée avec la littérature.

b. Allogreffe :

Parmi les 5 malades porteurs d'aplasie médullaire, 3 ont été mises en RC après l'allogreffe soit 60% des cas, 2 sont décédés dont un patient était décédé dans un tableau de choc septique grave et l'autre patient était décédé de maladie veino-occlusive avec détresse neurologique en relation probablement avec la toxicité de la ciclosporine. Les 2 malades porteurs de béta-thalassémie ont été mis en RC après l'allogreffe. Il a été noté un rejet des deux patients dans un délai moyen de 100 jours. Pour l'évolution, le suivi de ces deux patients a été marqué par une diminution du besoin transfusionnel, on a trouvé que leur thalassémie est devenue intermédiaire et étaient considérés comme guéris en RP. Les 2 malades porteurs de SCID ont été mis en RC après l'allogreffe et sont restés en RC. Les 3 malades porteurs d'hémopathie maligne (LAM, LAL, LMC) sont décédés.

Le choix des pathologies a été fait d'une manière arbitraire. De ce fait cette donnée n'est pas analysable.

6.4. Analyse des décès :

a. Autogreffe :

Un seul décès lié à la progression de la maladie hématologique (MM) a été noté dans notre série, soit un taux de 4,16%.

- Le décès est survenu dans un délai médian de 285 jours post-greffe, il est survenu 15 jours après la rechute. L'état hématologique pré-greffe du patient était en RC.

Dans l'étude publiée par Lalit Kumar en INDE en 2014, parmi 109 patients, 21 sont décédés soit 19,26% : [298]

- 18 décès dus à la progression de la maladie et aux complications associés
- (5 leucémies à cellules plasmatiques, 3 infections pulmonaires, 1 insuffisance rénale, 1 septicémie, 1 infarctus du myocarde)
- 1 décès dû à une leucémie secondaire

- 1 décès à une maladie virale
- 1 décès de cause inconnue

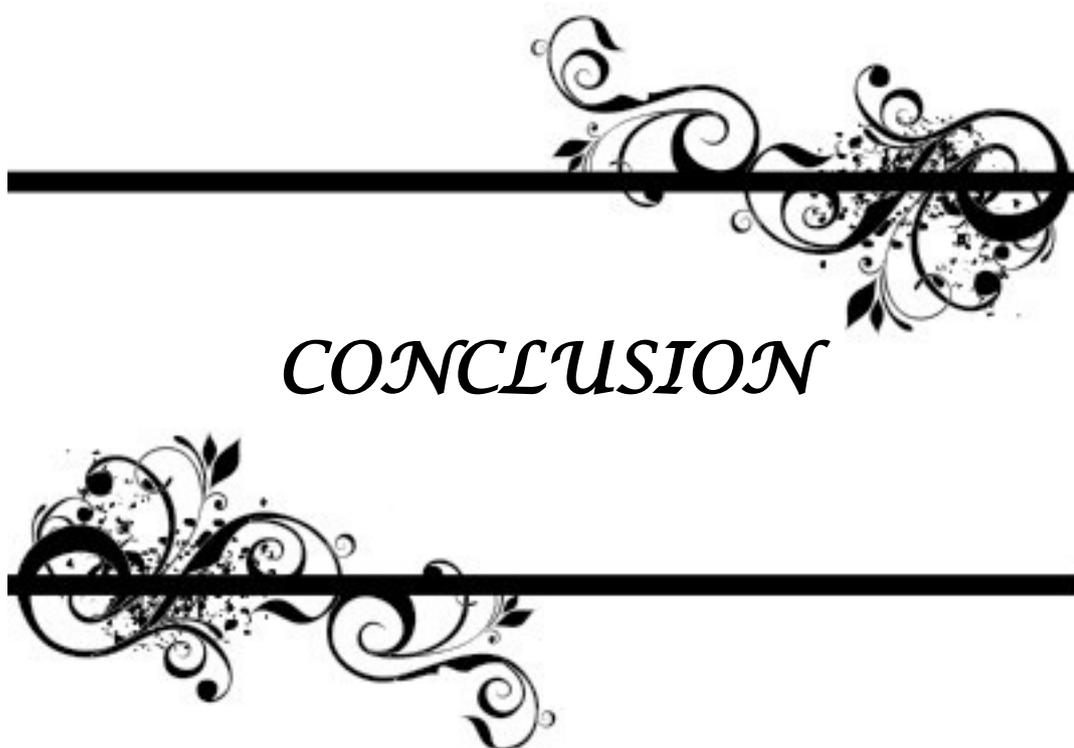
Dans une étude publiée par Stig Lenhoff sur 348 patients, 73 patients sont décédés soit 20,9%, la cause principale du décès était la progression de la maladie et des complications associées.

4 patients sont décédés par septicémie, une pneumonie à CMV, une leucémie aiguë myéloïde et un infarctus du myocarde.[302]

Nos résultats semblent être meilleurs par rapport à la littérature du fait du faible taux de mortalité bien que notre étude ne présente qu'un faible échantillon de 24 patients.

b. Allogreffe :

Nous avons remarqué que 41,67% de nos malades sont décédés, ceci peut être expliqué par plusieurs paramètres : la sévérité des infections bactériennes, virales et fongiques diagnostiquées ; le conditionnement myéloablatif dans le cadre des hémopathies malignes ; le statut de la maladie avant la greffe ; la non disponibilité de certains médicaments dans notre structure.



CONCLUSION



Au terme de ce travail qui a analysé rétrospectivement l'expérience du service d'hématologie clinique du Centre Hospitalier Universitaire de Marrakech en matière de greffe de moelle de 2012 à 2015 à travers l'étude des 36 premières greffes (24 autogreffes et 12 allogreffes), nous pensons avoir contribué au bilan d'activité de l'unité.

Comme nous l'avons précédemment expliqué, nous avons répertoriés à travers cette étude les indications, les modalités de réalisation, les résultats, la place de ces traitements et leurs complications, et nous avons discuté ces données et les ont comparés aux séries les plus récentes de la littérature internationale, tout en complétant notre travail par un rappel théorique des données épidémiologiques, diagnostiques et thérapeutiques des différentes modalités de greffes de cellules souches.

Cela va permettre certainement de déceler aussi bien les aspects positifs que négatifs de cette procédure afin de nous améliorer dans le futur pour une prise en charge thérapeutique optimale de nos malades.

Nous estimons qu'en globalité nos résultats sont encourageants, et nous espérons dans un avenir très proche élargir les indications de cette technique, et également démarrer l'activité de la greffe du sang du cordon.



ANNEXES



Fiche d'exploitation1 : Autogreffe

Bilan d'activité de l'unité de greffe de moelle osseuse au CHU Mohammed VI de Marrakech

1. Identité :

N° dossier : _____ Date de 1^{ère} consultation : _____
Nom / Prénom : _____
Sexe : F M
Age : _____ N° tél : _____
Statut marital : Célibataire Marié(e) Divorcé(e)
Origine : Rural Urbain
Profession : _____
Niveau socio-économique : Bas Moyen Elevé
Mutualiste : Oui Non

2. Antécédents :

Personnels : Oui Non
Familiaux :

3. Histoire de la maladie :

Durée d'évolution : _____
Début : brutal progressif
Symptomatologie : -
-
-

4. Clinique :

Délai de consultation : _____
Motif de consultation : _____
Signes généraux : -oui -non
*PS : 0 1 2 3 4
Signes cliniques : -
-
-

5. Diagnostic :

LNH MDH MM AUTRES

6. Type et Stade de la maladie :

Myélome multiple Classification de Durie et Salmon :
LYMPHOME : HODGKINIEN NON HODGKINIEN
Classification d'Ann Arbor :

7. Traitement reçu :

* 1^{ère} ligne :

---Evaluation post thérapeutique / Evolution :

Rémission complète : oui non
Rémission partielle : oui non
Echec : oui non
Rechute : oui non
Délai de survenue : Siège :
Confirmation histologique :

*2^{ème} ligne :

*3^{ème} ligne :

8. Bilan de pré-cytaphérèse de CSH :

NFS/PLQ :

Bilan d'hémostase : TP TCK Fibrinogène
Groupage ABO/ RH
Test de Coombs direct RAI Phénotype Rhésus Kell
Sérologies virales : HVB HVC HIV Syphilis
Bilan hépatique :
Bilan rénal :

9. Mobilisation de cellules souches:

Dose de G-CSF reçu : 10 ug/kg/jr 15ug/kg/jr

J4 : NFS : HB PLQ GB Bilan d'hémostase

CD 34 avant la procédure : Oui Non

KT : Fémoral double lumière Autre

Nombre de CD34 à la fin de la procédure :

Jour de la collecte : J1 J2

10. Bilan prégreffe :

normal Anormal

Prémédication avant l'autogreffe : Oui Non

Chimiothérapie reçue : protocole Melphalan BEAM

Complications à court terme du traitement :

Injection de cellules souches : Voie veineuse KT central

Réactions au cours de la procédure : Oui Non

Transfusion de cellules souches : durée de perfusion

11. Période d'aplasie médullaire :

-Durée d'aplasie médullaire :

-Durée de neutropénie :

- GB < 1000 :
- GB > 1000 :

-Durée de leucopénie :

* PNN < 500 :

* PNN = 0 :

* PNN > 500 :

-Durée de thrombopénie :

* Plq > 50.000 :

* Plq < 50.000 :

12. Complications :

Transfusion en CG filtrés irradiés

Transfusion en plaquettes

Neutropénie fébrile

Mucite

Diarrhée

Pneumopathie

Alopécie

⇒ **Conduite à tenir :**

Bilan complet : ECBU Parasitologie des selles coprocultures hémocultures

Germe isolé :

Antibiothérapie :

Alimentation parentérale :

Oui

Non

Durée :

G-CSF à J5

13. Suivi :

Délai entre J1 et la sortie du malade :

NFS/PLQ 1^{ère} consultation

Complications à court terme :

Statut après : -rémission complète

rémission partielle

-rechute

échec

décès

Autre traitement reçu en cas de rechute ou d'échec :

Fiche d'exploitation2 : Allogreffe

Bilan d'activité de l'unité de greffe de moelle osseuse au CHU Mohammed VI de Marrakech

4. Identité :

N° dossier : _____ Date de 1^{ère} consultation : _____
Nom / Prénom : _____
Sexe : F M
Age : _____ N° tél : _____
Statut marital : Célibataire Marié(e) Divorcé(e)
Origine : Rural Urbain
Profession : _____
Niveau socio-économique : Bas Moyen Elevé
Mutualiste : Oui Non

5. Antécédents :

Personnels : Oui Non
Familiaux :

6. Histoire de la maladie :

Durée d'évolution : _____
Début : brutal progressif
Symptomatologie : -
-
-

4. Clinique :

Délai de consultation : _____
Motif de consultation : _____
Signes généraux : -oui -non
*PS : 0 1 2 3 4
Signes cliniques : -
-
-

5. Diagnostic :

-Hémopathies malignes : LAL LAM LMC
-Aplasies médullaires
-Maladies constitutionnelles : déficit immunitaire hémoglobinoopathie
maladies métaboliques

***Conditionnement non myéloablatif :**

***Conditionnement d'intensité réduite :**

Fludarabine /cyclophosphamide autres :

10. Types de greffons:

Greffon de cellules souches périphériques Greffon de sang placentaire
Greffon médullaire : 3×10^8 cellules nucléées/kg

11. Choix du donneur :

Frère / sœur géno-identique : typage HLA statut sérologique CMV

Donneur non apparenté : Typage HLA classe I

Typage HLA classe II

Donneur familial non HLA –identique : HLA haplo-identique

12. Période d'aplasie médullaire :

-Durée d'aplasie médullaire :

-Durée de neutropénie :

- GB < 1000 :
- GB > 1000 :

-Durée de leucopénie :

* PNN < 500 :

* PNN = 0 :

* PNN > 500 :

-Durée de thrombopénie :

* Plq > 50.000 :

* Plq < 50.000 :

13. Complications :

*** < 100^{ème} jour :**

-complications liées au conditionnement et aux immunosupresseurs :

Mucite maladie veino-occlusive

Microangiopathie thrombotique

Cystite hémorragique HTA

IRénale Hémorragie

-complications infectieuses :

Bactériennes : pneumocoque haemophilus influenzae

Virales : CMV EBV HSV VZV

Fongiques : candida aspergillus pneumocystis jirovecii

Parasitaire : Toxoplasma gondii

-complications immunologiques :

Réaction du greffon contre l'hôte (GVH) aiguë

-Transfusions : Incompatibilités ABO

Allo-immunisation Surcharge martiale

-Complications métaboliques + nutritionnelles :

-Complications neurologiques :

-Prise de greffe :

*>100^{ème} jour :

-Réaction du greffon contre l'hôte (GVH) chronique

-Complications oculaires type :

-Retentissement hormonal : thyroïdien gonadique croissance

-Rechute Echec

14. Prise en charge des complications :

-GVH aiguë : Délai d'apparition : J - Stade de sévérité (Glucksberg) I II III IV

- ttt préventif : Ciclosporine + MTX

- ttt curatif : CTC 2MG/KG/jr

-MVO : -ttt préventif : Héparine à faible dose

-ttt curatif : restriction hydrosodée stricte diurétiques TS plq ponction d'ascite évacuatrice diminuer le ttt néphrotoxique

-AUTRES :

14. Suivi d'un patient allogreffé :

*en post-greffe :

Quotidien : NFS/PLQ

Ionogramme sanguin

Fonction rénale

Hémoculture

2 fois / semaine : Bilan hépatique complet

CRP

Albumine

PCR CMV

Antigène Aspergillaire

1 fois / semaine : TP/TCK/FIBRINOGENE

Hémoculture

ECBU

PCR toxoplasmose EBV

Examen bactériologique des selles

-Rythme de surveillance :

-Complications :

-Rechute décès

-Reprise activité à J

-Dates des dernières nouvelles :

-Statut du malade :

Grade	Lésion muqueuse	Douleur	Alimentation
0	Pas de mucite	Absente	Normale
1	Erythème	Sensation désagréable	Normale
2	Erythème, ulcération	Douleur	Normale
3	Ulcérations +	Douleur +	Alimentation liquide seule
4	Ulcérations +++	Douleur +++	Pas d'alimentation

Tableau : Echelle d'évaluation de la mucite (OMS)

Protocole BEAM (lymphomes, Hodgkin)	
Hyper hydratation	J-8 à J-1
BICNU	300 mg/m ² IV J-7
VEPESIDE	200 mg/m ² IV J-6 à J-3
ARACYTINE	200 mg/m ² IV J-6 à J-3
MELPHALAN	140 mg/m ² IV J-2
Greffe : ré-injection des cellules à J0	
Protocole MELPHALAN (Myélome multiple)	
MELPHALAN	200 mg/m ²

Tableau : Protocole de conditionnement pour autogreffe



RESUMES



Résumé

Ce travail représente l'étude des 36 premières greffes de moelle osseuse réalisée entre Janvier 2012 et Décembre 2015 dans le service d'Hématologie clinique du Centre Hospitalier Universitaire Mohammed VI de MARRAKECH chez 36 malades.

22 patients étaient atteints de myélome multiple, 1 d'une maladie de Hodgkin, 1 d'un lymphome malin non hodgkinien, 5 d'une aplasie médullaire, 2 d'une thalassémie, 2 d'un déficit immunitaire, 3 d'hémopathies malignes.

La moyenne d'âge était de 54 ans pour les autogreffes et de 7 ans pour les allogreffes.

Pour l'autogreffe, 18 patients ont été greffés pour consolider une rémission complète, 6 ont été greffés en rémission partielle. 22 greffes ont été conditionnées par chimiothérapie seule ; 2 greffes ont été conditionnées par une association chimiothérapique.

Huit allogreffes ont été conditionnées par chimiothérapie myéloablative; 2 greffes ont été conditionnées par chimiothérapie d'intensité réduite. 2 malades ayant un SCID n'ont pas été conditionnés.

Deux décès toxiques sont répertoriés. Trente quatre épisodes fébriles dont 10 ont été microbiologiquement étiquetés en majorité à cocci-gram positif ; avec 2 décès infectieux.

En analyse actuarielle, la survie globale pour les patients autogreffés et allogreffés était respectivement de 95,83% et de 50%, et la survie sans progression des autogreffés et allogreffés était respectivement de 95,7% et de 66,7%.

Nous estimons qu'en globalité nos résultats sont encourageants, et nous espérons dans un avenir très proche élargir les indications de cette technique, et également démarrer l'activité de la greffe du sang du cordon.

Abstract

This study is about the first 36 bone marrow transplants performed between January 2012 and December 2015 in the Clinical Hematology Department of the Mohammed VI University Hospital Center in MARRAKECH.

22 patients had multiple myeloma, 1 Hodgkin's disease, 1 non-Hodgkin's lymphoma, 5 had medullary aplasia, 2 had thalassemia, 2 had immunodeficiency, 3 had hematologic malignancies.

The average age was 54 years for autografts and 7 years for allografts.

For autograft, 18 patients were grafted to consolidate complete remission, 6 were grafted into partial remission. 22 transplants were conditioned by chemotherapy alone; 2 grafts were conditioned by a chemotherapeutic combination.

Eight allografts were conditioned by myeloablative chemotherapy; 2 grafts were conditioned by chemotherapy of reduced intensity. 2 patients with SCID were not conditioned.

Two toxic deaths are listed. Thirty-four febrile episodes of which 10 were microbiologically labeled predominantly with positive cocci-gram; with 2 infectious deaths.

In the actuarial analysis, overall survival for autograft and allograft patients was 95.83% and 50%, respectively, and the progression-free survival of autografts and allografts was 95.7% and 66.7%, respectively.

We believe that overall our results are encouraging, and we hope in the very near future to broaden the indications of this technique, and also to start the activity of the cord blood graft.

ملخص

إلى غاية القرن العشرين، كان سرطان المستقيمي القولوني نادرا، لكن نسبته قد تزايدت مؤخرا بشكل مواز مع التطور الإقتصادي للبلدان. حاليا يعتبر سرطان المستقيمي القولوني من بين الأورام الخبيثة الأكثر شيوعا و الأكثر خطورة.

في المغرب يبقى هذا النوع من السرطان ذا خطورة غير مكشوفة بسبب عدم وجود فحص مبكر و تأخر التشخيص.

تأتي هذه الدراسة في صدد تقييم للجوانب الوبائية و التشريحية للسرطان المستقيمي القولوني بمنطقة مراكش. تعد دراسة وصفية استعادية لمختلف الحالات التي تم رصدها بسجلات التشريح المرضي بمنطقة مراكش بين سنتي ١٩٩٥ و ٢٠١٥.

لقد تمكنا من إحصاء ٢٥٨٤ حالة إصابة بالسرطان المستقيمي القولوني حيث شكلت حالات سرطان القولون ٤٤٪ من الحالات، بينما شكل سرطان المستقيمي ٥٦٪ من الحالات. كان الجنس الذكري سائدا إذ بلغت نسبة الجنس ١،٣٤. السن المتوسط للإصابة في سلسلتنا هو ٥٥،٤ سنة مع أعمار قياسية تتراوح بين ١٨ و ١٠٠ سنة. تعتبر أورام الغدد العامل الرئيسي لتطور السرطان المستقيمي القولوني.

شكل القولون السيني ٤٤٪ من جميع حالات القولون بينما شكل المستقيم السفلي أكثر حالات المستقيمي بنسبة ٣٢٪.

تميزت الحالات السرطانية الليبيركونية عن جميع الأشكال النسيجية الأخرى بنسبة ٨٧٪ متبوعة بحالات السرطان الغدية من نوع كولوييد.

تم التشخيص في معظم الأحيان في مراحل متقدمة من المرض (٥٠٪ من الحالات شخصت في المرحلة الثالثة من المرض).

أخذا باعتبار لهذه النتائج، تأتي الضرورة لوضع استراتيجيات للفحص المبكر و الوقاية على المستوى الإقليمي و خاصة الوطني إستنادا لبيانات سجل السرطان.

و ستعد هذه نقطة إنطلاقة لحركة جماعية من أجل تحسين فرص الحصول إلى الرعاية الصحية و الدعم الطبي لمرضى السرطان بالمغرب.



BIBLIOGRAPHIE



1. **Les cellules souches hématopoïétiques : définition, origines et principales utilisations thérapeutiques.**
Faculté de médecine et de pharmacie Code de la Propriété Intellectuelle.
articles L 122. 4Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L
335.10http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>
2. **William Vainchenker, Josy Reiffers. Thérapie cellulaire.**
Editions John Libbey Eurotext 2004
<http://www.john-libbey-eurotext.fr>
3. **Mahmoud, H.K., A.M. El-Haddad, O.A. Fahmy, et al. 2008.**
Hematopoietic stemcell transplantation inEgypt.
BoneMarrowTransplant. **136**: 576-580
4. **KierszenbaumAL.**
Histologyandcellbiology:anintroductiontopathology.3rded.
Philadelphia,PA:MosbyElsevier;2012.Chapter6
5. **PASSWEG JR et al.**
Hematopoietic stem cell transplantation : a review and recommendation for follow-up
care for the general practioner.
Swiss Med Wkly.2012;142;w13696
6. **Parham P.**
the immune system de Genève sur la transplantation
<http://medweb2.unige.ch/immunologie/home/HSC/index.php>
7. **MedscapeReference, Article HematopoieticStem Cell**
Transplantation de cellules souches du sang
8. **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
9. **BOCCACCIO C, Haïoun C.**
Greffes de cellules souches hématopoïétiques.
MASSON 2007 , 165p

10. **Parham P. The immune system. 3rd ed.**
Garland science; 2009. Chapter 5
11. **Longo DI et al.**
Harrison's principles of internal medicine. 18th ed.
McGrawHill; 2012. Chapter 114
12. **SBSC Swiss Blood Stem Cells**
13. **BMDW 2011: Bone Marrow Donors Worldwide Annual Report**
14. **Lu, M. Kawamoto, H. Katsube, Y. Ikawa, T. and Katsura, Y. (2002).**
The common myelolymphoid progenitor: a key intermediate stage in hemopoiesis
generating T and B cells.
J Immunol 169, 3519-3525
15. **Bertrand F.E., Eckfeldt C.E., Fink J.R., Lysholm A.S., Pribyl J.A., Shah N., & LeBien T.W. (2000)**
Microenvironmental influences on human B-cell development.
Immunol.Rev., 175, 175-186
16. **Migliaccio, A. R. Rana, R. A. Sanchez, M. Lorenzini, R., Centurione, L. Bianchi, L. Vannucchi, A. M., Migliaccio, G., and Orkin, S. H. (2003).**
GATA-1 as a regulator of mast cell differentiation revealed by the phenotype of the
GATA-1 low mouse mutant.
J Exp Med 197, 281-296.
17. **Bertrand F.E., Eckfeldt C.E., Fink J.R. Lysholm A.S. Pribyl J.A. Shah N., & LeBien T.W. (2000).**
Microenvironmental influences on human B-cell development.
Immunol.Rev. 175, 175-186.
18. **Berardi A.C., Meffre E., Pflumio F., Katz A., Vainchenker W., Schiff C., & Coulombel L. (2002).**
Individual CD34⁺CD38^{low}CD19⁻CD10⁻ progenitor cells from human cord blood
generate B lymphocytes and granulocytes.
Blood, 89, 3554-3564.

19. **Ichii M., Oritani K., Yokota T., Nishida M., Takahashi I., Shirogane T., Ezoe S., Saitoh N., Tanigawa R., Kincade P.W., & Kanakura Y. (2008)**
Regulation of human B lymphopoiesis by the transforming growth factor- β superfamily in a newly established coculture system using human mesenchymal stem cells as a supportive microenvironment.
Exp. Hematol., **36**, 587-597.
20. **C. Le Berre Haematopoietic stem cell source Transfusion Clinique et Biologique 12 (2005) 160-162**
21. **Z. Ivanovic, J.-M.**
Boiron : Expansion ex vivo des cellules hématopoïétiques : concept et utilité clinique.
Transfusion Clinique et Biologique 16 (2009) 489-500
22. **Eaves C.J. (1993)**
Peripheral blood stem cells reach new heights.
Blood, **82**, 1957-1959
23. **Gluckman E. (2000)**
Current status of umbilical cord blood hematopoietic stem cell transplantation
Exp.Hematol, **28**, 1197-1205
24. **Dexter T.M. Moore M.A. & Sheridan A.P. (1977)**
Maintenance of hemopoietic stem cells and production of differentiated progeny in allogenic and semiallogenic bone marrow chimeras in vitro.
J.Exp.Med. **145**, 1612-1616
25. **Sutherland H.J., Eaves C.J., Eaves A.C., Dragowska W., & Lansdorp P.M. (2002)**
Characterization and partial purification of human marrow cells capable of initiating long-term hematopoiesis in vitro.
Blood, **74**, 1563-1570.
26. **Hao Q.L., Shah A.J., Thiemann F.T., Smogorzewska E.M., & Crooks G.M. (2004)**
A functional comparison of CD34 + CD38- cells in cord blood and bone marrow.
Blood, **86**, 3745-3753.
27. **Ivanovic Z.**
Interleukin-3 and ex vivo maintenance of hematopoietic stem cells: facts and controversies.
Eur Cytokine Netw 2004; 15:6-13.

- 28. Cashman J.D., Lapidot T., Wang J.C., Doedens M., Shultz L.D., Lansdorp P., Dick J.E., & Eaves C.J. (1997)**
Kinetic evidence of the regeneration of multilineage hematopoiesis from primitive cells in normal human bone marrow transplanted into immune deficient mice.
Blood, **89**, 4307-4316.
- 29. Larochelle A., Vormoor J., Hanenberg H., Wang J.C., Bhatia M., Lapidot T., Moritz T., Murdoch B., Xiao X.L., Kato I., Williams D.A., & Dick J.E. (2004)**
Identification of primitive human hematopoietic cells capable of repopulating NOD/SCID mouse bone marrow: implications for gene therapy.
Nat. Med., **2**, 1329-1337.
- 30. McKenzie J.L., Gan O.I., Doedens M., & Dick J.E. (2005)**
Human short-term repopulating stem cells are efficiently detected following intrafemoral transplantation into NOD/SCID recipients depleted of CD122+ cells.
Blood, **106**, 1259-1261.
- 31. Peled A., Petit I., Kollet O., Magid M., Ponomaryov T., Byk T., Nagler A., Ben-Hur H., Many A., Shultz L., Lider O., Alon R., Zipori D., & Lapidot T. (2004)**
Dependence of human stem cell engraftment and repopulation of NOD/SCID mice on CXCR4.
Science, **283**, 845-848.
- 32. Van Hennik P.B., de Koning A.E., & Ploemacher R.E. (2004)**
Seeding efficiency of primitive human hematopoietic cells in nonobese diabetic/severe combined immune deficiency mice: implications for stem cell frequency assessment.
Blood, **94**, 3055-3061
- 33. Fujisaki T., Berger M.G., Rose-John S., & Eaves C.J. (2004)**
Rapid differentiation of a rare subset of adult human lin CD34 (-) CD38 (-) cells stimulated by multiple growth factors in vitro.
Blood, **94**, 1926-1932.
- 34. Lazzari L., Lucchi S., Rebulli P., Porretti L., Puglisi G., Lecchi L., & Sirchia G. (2001)**
Long-term expansion and maintenance of cord blood haematopoietic stem cells using thrombopoietin, Flt3- ligand, interleukin (IL)-6 and IL-11 in a serum-free and stroma-free culture system .
Br.J.Haematol., **112**, 397-404.

35. **Wagner W., Wein F., Roderburg C., Saffrich R., Faber A., Krause U., Schubert M., Benes V., Eckstein V., Maul H., & Ho A.D. (2007b)**
Adhesion of hematopoietic progenitor cells to human mesenchymal stem cells as a model for cell-cell interaction.
Exp.Hematol. **35**, 314-325.
36. **Alakel N., Jing D., Muller K., Bornhauser M., Ehninger G., & Ordemann R. (2009)**
Direct contact with mesenchymal stromal cells affects migratory behavior and gene expression profile of CD133(+)hematopoietic stem cells during ex vivo expansion.
Exp Hematol., **37**, 504-513
37. **Kawada H., Ando K., Tsuji T., Shimakura Y., Nakamura Y., Chargui J., Hagihara M., Itagaki H., Shimizu T., Inokuchi S., Kato S., & Hotta T. (1999)**
Rapid ex vivo expansion of human umbilical cord hematopoietic progenitors using a novel culture system.
Exp.Hematol. **27**, 904-915.
38. **Kobune M., Kawano Y., Takahashi S., Takada K., Murase K., Iyama S., Sato T., Takimoto R., Niitsu Y., & Kato J. (2008b)**
Interaction with human stromal cells enhances CXCR4 expression and engraftment of cord blood Lin(-) CD34(-) cells.
Exp.Hematol. **36**, 1121-1131.
39. **Kim D.H., Yoo K.H., Yim Y.S., Choi J., Lee S.H., Jung H.L., Sung K.W., Yang S.E., Oh W.I., Yang Y.S., Kim S.H., Choi S.Y., & Koo H.H. (2006)**
Cotransplanted bone marrow derived mesenchymal stem cells (MSC) enhanced engraftment of hematopoietic stem cells in a MSC dose Dependent manner in NOD/SCIDmice
J.Korean Med.Sci., **21**, 1000-1004
40. **Wilmot I. The search for cells that heal.**
The creator of Dolly the cloned sheep asks that society look past the controversies to the ultimate payoff.
Sci Am. 2005; 293:A35
41. **Bruno B., Rotta M., Patriarca F. et al.**
A comparison of allografting with autografting for newly diagnosed myeloma,
N. Engl. J. Med. 356(11) (2007)

42. **Copelan EA. Hematopoietic stem-cell transplantation.**
N Engl J Med 2006; 354:1813-26.

43. **Wilmot I.**
The search for cells that heal. The creator of Dolly the cloned sheep asks that society look past the controversies to the ultimate payoff.
Sci Am. 2005; 293:A35

44. **Hochedlinger K, Jaenisch R.**
Nuclear transplantation, embryonic stem cells, and the potential for cell therapy.
N Engl J Med. 2003; 349: 275-86.

45. **Schmitz N, Linch DC, Dreger P, Goldstone AH, Boogaerts MA, Ferrant A, et al.**
Randomised trial of filgrastim-mobilised peripheral blood progenitor cell transplantation versus autologous bonemarrow transplantation in lymphoma patients.
Lancet 1996;**347**: 353-7.

46. **Quesenberry PJ, Goldberg L, Aliotta J, Dooner M.**
Marrow hematopoietic stem cells revisited: they exist in a continuum and are not defined by standard purification approaches; then there are the microvesicles.
Front Oncol 2014;**4**:56.

47. **Weaver CH, Hazelton B, Birch R, Palmer P, Allen C, Schwartzberg L, et al.**
An analysis of engraftment kinetics as a function of the CD34 content of peripheral blood progenitor cell collections in 692 patients after the administration of myeloablative chemotherapy.
Blood 1995;**86**:3961-9.

48. **Lefrere F, Mauge L, Rea D, Ribeil JA, Dal CL, Brignier AC, et al.**
A specific time course for mobilization of peripheral blood CD34+ cells after plerixafor injection in very poor mobilizer patients: impact on the timing of the apheresis procedure.
Transfusion 2013;**53**: 564-9.

49. **DiPersio JF, Stadtmauer EA, Nademanee A, Micallef IN, Stiff PJ, Kaufman JL, et al.**
Plerixafor and G-CSF versus placebo and G-CSF to mobilize hematopoietic stem cells for autologous stem cell transplantation in patients with multiple myeloma.
Blood 2009;**113**:5720-6.

50. **Taubert I, Saffrich R, Zepeda-Moreno A, Hellwig I, Eckstein V, Bruckner T, et al.**
Characterization of hematopoietic stem cell subsets from patients with multiple myeloma after mobilization with plerixafor.
Cytotherapy 2011;13:459-66.
51. **Peled A, Abraham M, Avivi I, Rowe JM, Beider K, Wald H, et al.**
The high-affinity CXCR4 antagonist BKT140 is safe and induces a robust mobilization of human CD34+ cells in patients with multiple myeloma.
Clin Cancer Res 2014;20:469-79.
52. **Hopman RK, DiPersio JF.**
Advances in stem cell mobilization.
Blood Rev 2014;28:31-40.
53. **Lapierre V, Rossi JF, Heshmati F, Azar N, Vekhof A, Makowski C, et al.**
Ancestim (r-metHuSCF) plus filgrastim and/or chemotherapy for mobilization of blood progenitors in 513 poorly mobilizing cancer patients: the French compassionate experience.
Bone Marrow Transplant 2011;46:936-42.
54. **Juarez JG, Harun N, Thien M, Welschinger R, Baraz R, Pena AD, et al.**
Sphingosine-1-phosphate facilitates trafficking of hematopoietic stem cells and their mobilization by CXCR4 antagonists in mice.
Blood 2012;119:707-16.
55. **Bonig H, Wundes A, Chang KH, Lucas S, Papayannopoulou T.**
Increased numbers of circulating hematopoietic stem/progenitor cells are chronically maintained in patients treated with the CD49d blocking antibody natalizumab.
Blood 2008;111:3439-41.
56. **Ballen KK, Shpall EJ, Avigan D, Yeap BY, Fisher DC, McDermott K, et al.**
Phase I trial of parathyroid hormone to facilitate stem cell mobilization.
Biol Blood Marrow Transplant 2007;13:838-43.
57. **Forristal CE, Winkler IG, Nowlan B, Barbier V, Walkinshaw G, Levesque JP.**
Pharmacologic stabilization of HIF-1 α increases hematopoietic stem cell quiescence in vivo and accelerates blood recovery after severe irradiation.
Blood 2013;121:759-69.

58. **Niesvizky R, Mark TM, Ward M, Jayabalan DS, Pearse RN, Manco M, et al.**
Overcoming the response plateau in multiple myeloma: a novel bortezomib-based strategy for secondary induction and high-yield CD34+ stem cell mobilization.
Clin Cancer Res 2013; **19**:1534-46.
59. **Hequet O.**
Hematopoietic stem and progenitor cell harvesting: technical advances and clinical utility.
J Blood Med 2015; **6**:55-67.
60. **Walasek MA, van OR, de HG.**
Hematopoietic stem cell expansion: challenges and opportunities.
Ann N Y Acad Sci 2012; **1266**:138-50.
61. **Al-Anazi KA.**
Autologous hematopoietic stem cell transplantation for multiple myeloma without cryopreservation.
Bone Marrow Res 2012; **2012**:917361.
62. **Berz D, McCormack EM, Winer ES, Colvin GA, Quesenberry PJ.**
Cryopreservation of hematopoietic stem cells.
Am J Hematol 2007; **82**:463-72.
63. **Remes K, Itala M, Kauppila M, Pelliniemi TT, Rajamaki A.**
Autologous blood cell transplantation in multiple myeloma: impact of CD34+ cell selection with long follow-up.
J Hematother Stem Cell Res 2003; **12**:63-70.
64. **Yahng SA, Yoon JH, Shin SH, Lee SE, Cho BS, Eom KS, et al.**
Influence of ex vivo purging with CliniMACS CD34(+) selection on outcome after autologous stem cell transplantation in non-Hodgkin lymphoma.
Br J Haematol 2014; **164**:555-64.
65. **Messina C, Candoni A, Carrabba MG, Tresoldi C, Sala E, Tassara M, et al.**
Wilms' Tumor Gene 1 transcript levels in leukapheresis of peripheral blood hematopoietic cells predict relapse risk in patients autografted for acute myeloid leukemia.
Biol Blood Marrow Transplant 2014; **20**:1586-91.
66. **Schouten HC, Qian W, Kvaloy S, Porcellini A, Hagberg H, Johnsen HE, et al.**
High-dose therapy improves progression-free survival and survival in relapsed follicular non-Hodgkin's lymphoma: results from the randomized European CUP trial.
J Clin Oncol 2003; **21**:3918-27.

67. **Crippa F, Holmberg L, Carter RA, Hooper H, Marr KA, Bensinger W, et al.**
Infectious complications after autologous CD34-selected peripheral blood stem cell transplantation.
Biol Blood Marrow Transplant 2002;8:281-9.
68. **Hamadani M.**
Autologous hematopoietic cell transplantation: an update for clinicians.
Ann Med 2014;46:619-32.
69. **Blanes M, Lahuerta JJ, Gonzalez JD, Ribas P, Solano C, Alegre A, et al.**
Intravenous busulfan and melphalan as a conditioning regimen for autologous stem cell transplantation in patients with newly diagnosed multiple myeloma: a matched comparison to a melphalan-only approach.
Biol Blood Marrow Transplant 2013;19:69-74.
70. **Roussel M, Moreau P, Huynh A, Mary JY, Danho C, Caillot D, et al.**
Bortezomib and high-dose melphalan as conditioning regimen before autologous stem cell transplantation in patients with de novo multiple myeloma: a phase 2 study of the Intergroupe Francophone du Myelome (IFM).
Blood 2010;115:32-7.
71. **Berger MD, Branger G, Klaeser B, Taleghani BM, Novak U, Banz Y, et al.**
Zevalin and BEAM (Z-BEAM) versus rituximab and BEAM (R-BEAM) conditioning chemotherapy prior to autologous stem cell transplantation in patients with mantle cell lymphoma.
Hematol Oncol 2015 [Epub ahead of print].
72. **Vose JM, Carter S, Burns LJ, Ayala E, Press OW, Moskowitz CH, et al.**
Phase III randomized study of rituximab/carmustine, etoposide, cytarabine, and melphalan (BEAM) compared with iodine-131 tositumomab/BEAM with autologous hematopoietic cell transplantation for relapsed diffuse large B-cell lymphoma: results from the BMTCTN 0401 trial.
J Clin Oncol 2013;31:1662-8.
73. **Oh DH, Chua N, Street L, Stewart DA.**
Treatment of secondary central nervous system lymphoma patients with high-dose Busulfan/Thiotepa-based conditioning and autologous stem cell transplantation.
Leuk Lymphoma 2015:1-6 [Epub ahead of print].

74. **Hayashi T, Ikeda H, Igarashi T, Maruyama Y, Aoki Y, Nojima M, et al.**
Autologous stem cell transplantation for AL amyloidosis: adjustment of melphalan dose by factors including BNP.
Int J Hematol 2014;100:554-8.
75. **Hong M, Miao KR, Zhang R, Lu H, Liu P, Xu W, et al.**
High-dose idarubicin plus busulfan as conditioning regimen to autologous stem cell transplantation: promising post-remission therapy for acute myeloid leukemia in first complete remission?
Med Oncol 2014;31:980.
76. **Shevchenko JL, Kuznetsov AN, Ionova TI, Melnichenko VY, Fedorenko DA, Kurbatova KA, et al.**
Long-term outcomes of autologous hematopoietic stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning in multiple sclerosis: physician's and patient's perspectives.
Ann Hematol 2015;94:1149-57.
77. **Mancardi GL, Sormani MP, Gualandi F, Saiz A, Carreras E, Merelli E, et al.**
Autologous hematopoietic stem cell transplantation in multiple sclerosis: a phase II trial.
Neurology 2015;84:981-8.
78. **D'Addio F, Valderrama VA, Ben NM, Franek E, Zhu D, Li L, et al.**
Autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in new-onset type 1 diabetes: a multicenter analysis.
Diabetes 2014;63:3041-6.
79. **Gratwohl A, Baldomero H, Sureda A. In: Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Masszi T, editors.**
Haematopoietic stem cell transplantation.
The EBMT Handbook. Genoa: Forum Service Editore; 2012. p. 302-15.
80. **Engelhardt M, Terpos E, Kleber M, Gay F, Wasch R, Morgan G, et al.**
European Myeloma Network recommendations on the evaluation and treatment of newly diagnosed patients with multiple myeloma.
Haematologica 2014;99:232-42.
81. **Moreau P, Attal M. All transplantation-eligible patients with myeloma should receive ASCT in first response. In: Anderson KC, Bauer KA, Tallman MS, Crowther MA, editors.**
Hematology 2014. Washington: Blood; 2014. p. 250-4.

82. **Gertz MA, Dingli D.**
How we manage autologous stem cell transplantation for patients with multiple myeloma.
Blood 2014;124:882-90.
83. **Richardson PG, Laubach JP, Munshi NC, Anderson KC. Early or delayed transplantation for multiple myeloma in the era of novel therapy: does one size fit all?** In: Anderson KC, Bauer KA, Tallman MS, Crowther MA, editors.
Hematology 2014. Washington: Blood;2014. p. 255-61.
84. **Kumar SK, Lacy MQ, Dispenzieri A, Buadi FK, Hayman SR, Dingli D, et al.**
Early versus delayed autologous transplantation after immunomodulatory agents-based induction therapy in patients with newly diagnosed multiple myeloma.
Cancer 2012;118:1585-92.
85. **Dunavin NC, Wei L, Elder P, Phillips GS, Benson Jr DM, Hofmeister CC, et al.**
Early versus delayed autologous stem cell transplant in patients receiving novel therapies for multiple myeloma.
Leuk Lymphoma 2013;54:1658-64.
86. **Palumbo A, Cavallo F, Gay F, Di RF, Ben YD, Petrucci MT, et al.**
Autologous transplantation and maintenance therapy in multiple myeloma.
N Engl J Med 2014;371:895-905.
87. **Palumbo A, Gay F, Spencer A, Di Raimondo F, Zdenek A, Larocca A, et al.**
A phase III study of ASCT vs cyclophosphamide-lenalidomide-dexamethasone and lenalidomide-prednisone maintenance vs lenalidomide alone in newly diagnosed myeloma patients;
ASH Annual Meeting 2013, [abstract 763].
88. **Venner CP, Gillmore JD, Sachchithanatham S, Mahmood S, Lane T, Foard D, et al.**
Stringent patient selection improves outcomes in AL amyloidosis after autologous stem cell transplantation in the upfront and relapsed setting.
Haematologica 2014;99:e260-3.
89. **Huang X, Wang Q, Chen W, Zeng C, Chen Z, Gong D, et al.**
Induction therapy with bortezomib and dexamethasone followed by autologous stem cell transplantation versus autologous stem cell transplantation alone in the treatment of renal AL amyloidosis: a randomized controlled trial.
BMC Med 2014;12:2.

90. **Scott EC, Heitner SB, Dibb W, Meyers G, Smith SD, Abar F, et al.**
Induction bortezomib in AL amyloidosis followed by high dose melphalan and autologous stem cell transplantation: a single institution retrospective study.
Clin Lymphoma Myeloma Leuk 2014;**14**:424-30.

91. **Kristen AV, Rosenberg M, Lindenmaier D, Merkle C, Steen H, Andre F, et al.**
Osteopontin: a novel predictor of survival in patients with systemic light-chain amyloidosis.
Amyloid 2014;**21**:202-10.

92. **Palladini G, Dispenzieri A, Gertz MA, Kumar S, Wechalekar A, Hawkins PN, et al.**
New criteria for response to treatment in immunoglobulin light chain amyloidosis based on free light chain measurement and cardiac biomarkers: impact on survival outcomes.
J Clin Oncol 2012;**30**:4541-9.

93. **Girnius S, Seldin DC, Cibeira MT, Santhorawala V.**
New hematologic response criteria predict survival in patients with immunoglobulin light chain amyloidosis treated with high-dose melphalan and autologous stem-cell transplantation.
J Clin Oncol 2013;**31**:2749-50.

94. **Gisselbrecht C, Glass B, Mounier N, Singh GD, Linch DC, Trneny M, et al.**
Salvage regimens with autologous transplantation for relapsed large B-cell lymphoma in the rituximab era.
J Clin Oncol 2010;**28**:4184-90.

95. **Philip T, Guglielmi C, Hagenbeek A, Somers R, Van der Lelie H, Bron D, et al.**
Autologous bone marrow transplantation as compared with salvage chemotherapy in relapses of chemotherapy-sensitive non-Hodgkin's lymphoma.
N Engl J Med 1995;**333**:1540-5.

96. **Thieblemont C, Briere J, Mounier N, Voelker HU, Cuccuini W, Hirsch E, et al.**
The germinal center/activated B-cell subclassification has a prognostic impact for response to salvage therapy in relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma: a bio-CORAL study.
J Clin Oncol 2011;**29**:4079-87.

97. **Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G, et al.**
Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray.
Blood 2004;**103**:275-82.

98. **Fruchart C, Tilly H, Morschhauser F, Ghesquieres H, Bouteloup M, Ferme C, et al.**
Upfront consolidation combining yttrium-90 ibritumomabtiuxetan and high-dose therapy with stem cell transplantation in poor-risk patients with diffuse large B cell lymphoma.
Biol Blood Marrow Transplant 2014;20:1905-11.
99. **Visani G, Stefani PM, Capria S, Malerba L, Galieni P, Gaudio F, et al.**
Bendamustine, etoposide, cytarabine, melphalan, and autologous stem cell rescue reduce a 72% 3-year PFS in resistant lymphoma.
Blood 2014;124:3029-31.
100. **Colpo A, Hochberg E, Chen YB.**
Current status of autologous stem cell transplantation in relapsed and refractory Hodgkin's lymphoma.
Oncologist 2012;17:80-90.
101. **Rancea M, von TB, Monsef I, Engert A, Skoetz N.**
High-dose chemotherapy followed by autologous stem cell transplantation for patients with relapsed or refractory Hodgkin lymphoma: a systematic review with meta-analysis.
Crit Rev Oncol Hematol 2014;92:1-10.
102. **Onishi M, Graf SA, Holmberg L, Behnia S, Shustov AR, Schiavo K, et al.**
Brentuximab vedotin administered to platinum-refractory, transplant-naïve Hodgkin lymphoma patients can increase the proportion achieving FDG PET negative status.
Hematol Oncol 2014[Epub ahead of print].
103. **Moskowitz CH, Nademanee A, Masszi T, Agura E, Holowieckij, Abidi MH, et al.**
Brentuximab vedotin as consolidation therapy after autologous stem-cell transplantation in patients with Hodgkin's lymphoma at risk of relapse or progression (AETHERA): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial.
Lancet 2015;385:1853-62.
104. **Chen R, Palmer JM, Thomas SH, Tsai NC, Farol L, Nademanee A, et al.**
Brentuximab vedotin enables successful reduced-intensity allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with relapsed or refractory Hodgkin lymphoma.
Blood 2012;119:6379-81.
105. **Delarue R, Haioun C, Ribrag V, Brice P, Delmer A, Tilly H, et al.**
CHOP and DHAP plus rituximab followed by autologous stem cell transplantation in mantle cell lymphoma: a phase 2 study from the Groupe d'Étude des Lymphomes de l'Adulte.
Blood 2013;121:48-53.

106. **Touzeau C, Leux C, Bouabdallah R, Roussel M, Delarue R, Bouabdallah K, et al.**
Autologous stem cell transplantation in mantle cell lymphoma: a report from the SFGM-TC.
Ann Hematol 2014; **93**:233-42.
107. **Le Gouill S, Cartron G, Tournilhac O, Morschhauser F, Dorvaux V, Fleury J, et al.**
Rituximab maintenance versus WW after R-DHAPplus ASCT in untreated patients with MCL: Interim analysis of the LYMA trial. A LYSA study. 13th International Conference on Malignant Lymphoma, June 17-20, 2015, Lugano, Switzerland. Abstract 061.
108. **Al KM, de Almeida JR, Guyatt GH, Kuruvilla J, Crump M.**
Autologous stem cell transplantation in follicular lymphoma: a systematic review and meta-analysis.
J Natl Cancer Inst 2012; **104**:18-28.
109. **Wang B, Ren C, Zhang W, Ma X, Xia B, Sheng Z.**
Intensified therapy followed by autologous stem-cell transplantation (ASCT) versus conventional therapy as first-line treatment of follicular lymphoma: a meta-analysis. *Hematol Oncol* 2013; **31**:29-33.
110. **Schaaf M, Reiser M, Borchmann P, Engert A, Skoetz N.**
High-dose therapy with autologous stem cell transplantation versus chemotherapy or immuno-chemotherapy for follicular lymphoma in adults.
Cochrane Database Syst Rev 2012; (1):CD007678.
111. **Kothari J, Peggs KS, Bird A, Thomson KJ, Morris E, Virchis AE, et al.**
Autologous stem cell transplantation for follicular lymphoma is of most benefit early in the disease course and can result in durable remissions, irrespective of prior rituximab exposure.
Br J Haematol 2014; **165**:334-40.
112. **Metzner B, Pott C, Muller TH, Gebauer W, Casper J, Kraemer D, et al.**
Long-term clinical and molecular remissions in patients with follicular lymphoma following high-dose therapy and autologous stem cell transplantation.
Ann Oncol 2013; **24**:1609-15.

113. **El-Najjar I, Boumendil A, Luan JJ, Bouabdallah R, Thomson K, Mohty M, et al.**
The impact of total body irradiation on the outcome of patients with follicular lymphoma treated with autologous stem cell transplantation in the modern era. A retrospective study of the EBMT lymphoma working party.
Ann Oncol 2014;**25**:2224-9.
114. **Derenzini E, Casadei B, Broccoli A, Gandolfi L, Pellegrini C, Zinzani PL.**
Sequential therapy with alternating short courses of R-CHOP (rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone) and R-FM (rituximab, fludarabine, mitoxantrone) followed by autologous stem cell transplantation results in long term remission in advanced follicular lymphoma.
Br J Haematol 2014;**166**:625-8.
115. **Sebban C, Brice P, Delarue R, Haioun C, Souleau B, Mounier N, et al.**
Impact of rituximab and/or high-dose therapy with autotransplant at time of relapse in patients with follicular lymphoma: a GELA study.
J Clin Oncol 2008;**26**:3614-20.
116. **Alcantara M, Dupuis J, Mareschal S, Julian A, Cottreau AS, Becker S, et al.**
PET/CT before autologous stem cell transplantation predicts outcome in refractory/relapsed follicular lymphoma.
Eur J Nucl Med Mol Imaging 2015;**42**:215-21.
117. **Pettengell R, Schmitz N, Gisselbrecht C, Smith G, Patton WN, Metzner B, et al.**
Rituximab purging and/or maintenance in patients undergoing autologous transplantation for relapsed follicular lymphoma: a prospective randomized trial from the lymphoma working party of the European group for blood and marrow transplantation.
J Clin Oncol 2013;**31**:1624-30.
118. **Cohen S, Kiss T, Lachance S, Roy DC, Sauvageau G, Busque L, et al.**
Tandem autologous-allogeneic nonmyeloablative sibling transplantation in relapsed follicular lymphoma leads to impressive progression-free survival with minimal toxicity.
Biol Blood Marrow Transplant 2012;**18**:951-7.
119. **Ban-Hoefen M, Kelly JL, Bernstein SH, Liesveld J, Constine L, Becker M, et al.**
High-dose therapy and autologous stem cell transplant for transformed non-Hodgkin lymphoma in the rituximab era.
Leuk Lymphoma 2012;**53**:830-5.

120. **Villa D, Crump M, Keating A, Panzarella T, Feng B, Kuruvilla J.**
Outcome of patients with transformed indolent non-Hodgkin lymphoma referred for autologous stem-cell transplantation.
Ann Oncol 2013; **24**:1603-9.
121. **Zittoun RA, Mandelli F, Willemze R, de WT, Labar B, Resegotti L, et al.**
Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) and the Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto (GIMEMA) Leukemia Cooperative Groups.
N Engl J Med 1995; **332**:217-23.
122. **Thomas X, Suci S, Rio B, Leone G, Broccia G, Fillet G, et al.**
Autologous stem cell transplantation after complete remission and first consolidation in acute myeloid leukemia patients aged 61-70 years: results of the prospective EORTC-GIMEMA AML-13 study.
Haematologica 2007; **92**:389-96.
123. **Burnett AK, Goldstone AH, Stevens RM, Hann IM, Rees JK, Gray RG, et al.**
Randomised comparison of addition of autologous bone marrow transplantation to intensive chemotherapy for acute myeloid leukaemia in first remission: results of MRC AML 10 trial. UK Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties.
Lancet 1998; **351**:700-8.
124. **Keating A, DaSilva G, Perez WS, Gupta V, Cutler CS, Ballen KK, et al.**
Autologous blood cell transplantation versus HLA identical sibling transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission: a registry study from the Center for International Blood and Marrow Transplantation Research.
Haematologica 2013; **98**:185-92.
125. **Singh H, Werner LL, Asali S, DeAngelo DJ, Ballen KK, Amrein PC, et al.**
Comparison of autologous stem cell transplantation versus consolidation chemotherapy for patients with cytogenetically normal acute myeloid leukemia (CN-AML) and FLT3 ITD. *Am J Hematol* 2011; **86**:625-7.
126. **Borrello IM, Levitsky HI, Stock W, Sher D, Qin L, DeAngelo DJ, et al.**
Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)-secreting cellular immunotherapy in combination with autologous stem cell transplantation (ASCT) as postremission therapy for acute myeloid leukemia (AML).
Blood 2009; **114**:1736-45.
-

127. **Nagler A, Labopin M, Gorin NC, Ferrara F, Sanz MA, Wu D, et al.**
Intravenous busulfan for autologous stem cell transplantation in adult patients with acute myeloid leukemia: a survey of 952 patients on behalf of the Acute Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation.
Haematologica 2014; **99**:1380-6.
128. **Feller N, van der Pol MA, Waaijman T, Weijers GW, Westra G, Ossenkoppele GJ, et al.**
Immunologic purging of autologous peripheral blood stem cell products based on CD34 and CD133 expression can be effectively and safely applied in half of the acute myeloid leukemia patients.
Clin Cancer Res 2005; **11**:4793-801.
129. **Wang J, Ouyang J, Zhou R, Chen B, Yang Y.**
Autologous hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission: a meta-analysis of randomized trials.
Acta Haematol 2010; **124**:61-71.
130. **Czerw T, Labopin M, Gorin N, Giebel S, Blaise D, Meloni G.**
Long-term follow-up of autologous hematopoietic stem cell transplantation (AHSCT) for acute myeloid leukemia (AML): a survey of 3567 patients in CR at 3 years post-transplantation, from the Acute Leukemia Working Party of the EBMT. ASH Annual Meeting 2012; [abstract 3112].
131. **Gupta V, Richards S, Rowe J.**
Allogeneic, but not autologous, hematopoietic cell transplantation improves survival only among younger adults with acute myeloid leukemia in first remission: an individual patient data meta-analysis.
Blood 2013; **121**: 339-50.
132. **Wetzler M, Watson D, Stock W, Koval G, Mulkey FA, Hoke EE, et al.**
Autologous transplantation for Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia achieves outcomes similar to allogeneic transplantation: results of CALGB Study 10001 (Alliance).
Haematologica 2014; **99**:111-5.
133. **Wang J, Zhang Q, Zhou R, Chen B, Ouyang J.**
High-dose chemotherapy followed by autologous stem cell transplantation as a first-line therapy for high-risk primary breast cancer: a meta-analysis.
PLoS One 2012; **7**:e33388.

134. **Pedrazzoli P, Martinelli G, Gianni AM, Da Prada GA, Ballestrero A, Rosti G, et al.**
Adjuvant high-dose chemotherapy with autologous hematopoietic stem cell support for high-risk primary breast cancer: results from the Italian national registry.
Biol Blood Marrow Transplant 2014;**20**:501-6.
135. **Lewin J, Dickinson M, Voskoboynik M, Collins M, Ritchie D, Toner G.**
High-dose chemotherapy with autologous stem cell transplantation in relapsed or refractory germ cell tumours: outcomes and prognostic variables in a case series of 17 patients.
Intern Med J 2014;**44**:771-8.
136. **Papadimitriou C, Dafni U, Anagnostopoulos A, Vlachos G, Voulgaris Z, Rodolakis A, et al.**
High-dose melphalan and autologous stem cell transplantation as consolidation treatment in patients with chemosensitive ovarian cancer: results of a single-institution randomized trial.
Bone Marrow Transplant 2008;**41**:547-54.
137. **Litzow MR, Peethambaram PP, Safgren SL, Keeney GL, Ansell SM, Dispenzieri A, et al.**
Phase I trial of autologous hematopoietic SCT with escalating doses of topotecan combined with CY and carboplatin in patients with relapsed or persistent ovarian or primary peritoneal carcinoma.
Bone Marrow Transplant 2010;**45**: 490-7.
138. **Gill P, Litzow M, Buckner J, Arndt C, Moynihan T, Christianson T, et al.**
High-dose chemotherapy with autologous stem cell transplantation in adults with recurrent embryonal tumors of the central nervous system.
Cancer 2008;**112**:1805-11.
139. **Wang J, Zhan P, Ouyang J, Chen B, Zhou R, Yang Y.**
Impact of high-dose chemotherapy with autologous hematopoietic stem cell transplantation on small-cell lung cancer.
Lung Cancer 2009;**65**:126-7.
140. **Peinemann F, Smith LA, Bartel C.**
Autologous hematopoietic stem cell transplantation following high dose chemotherapy for nonrhabdomyosarcoma soft tissue sarcomas.
Cochrane Database Syst Rev 2013;(8):CD008216.

141. **Peinemann F, Kroger N, Bartel C, Grouven U, Pittler M, Erttmann R, et al.**
High-dose chemotherapy followed by autologous stem cell transplantation for metastatic rhabdomyosarcoma—a systematic review.
PLoS One 2011;**6**:e17127.
142. **Curro D, Vuolo L, Gualandi F, Bacigalupo A, Roccatagliata L, Capello E, et al.**
Low intensity lympho-ablative regimen followed by autologous hematopoietic stem cell transplantation in severe forms of multiple sclerosis: A MRI-based clinical study.
Mult Scler 2015 [Epub ahead of print].
143. **Al-toma A, Nijeboer P, Bouma G, Visser O, Mulder CJ.**
Hematopoietic stem cell transplantation for non-malignant gastrointestinal diseases.
World J Gastroenterol 2014;**20**:17368-75.
144. **Collins E, Gilkeson G.**
Hematopoietic and mesenchymal stem cell transplantation in the treatment of refractory systemic lupus erythematosus—where are we now?
Clin Immunol 2013;**148**: 328-34.
145. **Tyndall A.**
Application of autologous stem cell transplantation in various adult and pediatric heumatic diseases.
Pediatr Res 2012;**71**:433-8.
146. **van Laar JM, Farge D, Sont JK, Naraghi K, Marjanovic Z, Larghero J, et al.**
Autologous hematopoietic stem cell transplantation vs intravenous pulse cyclophosphamide in diffuse cutaneous systemic sclerosis: a randomized clinical trial.
JAMA 2014;**311**: 2490-8.
147. **Passweg JR, Rabusin M.**
Hematopoietic stem cell transplantation for immune thrombocytopenia and other efractory autoimmune cytopenias.
Autoimmunity 2008;**41**:660-5.
148. **Majhail NS, Rizzo JD.**
Surviving the cure: long term follow-up of hematopoietic cell transplant recipients.
Bone Marrow Transplant 2013;**48**:1145-51.

149. **[Majhail NS, Rizzo JD, Lee SJ, Aljurf M, Atsuta Y, Bonfim C, et al.**
Recommended screening and preventive practices for longterm survivors after
ematopoietic cell transplantation.
Bone Marrow Transplant 2012;**47**:337-41
150. **Centers for Disease Control and Prevention.**
Vaccination of Hematopoietic Stem Cell Transplant (HSCT) Recipients.
www.cdc.gov/vaccines/pubs/hemato-cell-transplts.htm.
151. **Storb R, Yu C, Wagner JL, Deeg HJ, Nash RA, Kiem HP, et al.**
Stable mixed hematopoietic chimerism in DLA-identical littermate dogs given sublethal
total body irradiation before and pharmacological immunosuppression after marrow
transplantation.
Blood 1997;**89**:3048-54.
152. **Slavin S, Nagler A, Nappastek E, Kapelushnik Y, Aker M, Cividalli G, et al.**
Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative
to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of
malignant and nonmalignant hematologic diseases.
Blood 1998;**91**:756-63.
153. **Clift RA, Buckner CD, Appelbaum FR, Bearman SI, Petersen FB, Fisher LD, et al.**
Allogeneic marrow transplantation in patients with acute myeloid leukemia in first
remission: a randomized trial of two irradiation regimens.
Blood 1990;**76**:1867-71.
154. **Cosset JM, Baume D, Pico JL, Shank B, Girinski T, Benhamou E, et al.**
Single dose versus hyperfractionated total body irradiation before allogeneic bone marrow
transplantation: a non-randomized comparative study of 54 patients at the Institut
Gustave-Roussy.
Radiother Oncol 1989;**15**:151-60.
155. **Thomas ED, Buckner CD, Banaji M, Clift RA, Fefer A, Flournoy N, et al.**
One hundred patients with acute leukemia treated by chemotherapy, total body
irradiation, and allogeneic marrow transplantation.
Blood 1977;**49**:511-33.
156. **Santos GW, Tutschka PJ, Brookmeyer R, Saral R, Beschorner WE, Bias WB, et al.**
Marrow transplantation for acute nonlymphocytic leukemia after treatment with busulfan
and cyclophosphamide.
N Engl J Med 1983;**309**:1347-53.
-

157. **Ringden O, Remberger M, Ruutu T, Nikoskelainen J, Volin L, Vindelov L, et al.**
Increased risk of chronic graft-versus-host disease, obstructive bronchiolitis, and alopecia with busulfan versus total body irradiation: long-term results of a randomized trial in allogeneic marrow recipients with leukemia. Nordic Bone Marrow Transplantation Group.
Blood 1999;**93**:2196-201.
158. **Devergie A, Blaise D, Attal M, Tigaud JD, Jouet JP, Vernant JP, et al.**
Allogeneic bone marrow transplantation for chronic myeloid leukemia in first chronic phase: a randomized trial of busulfan-cytosine versus cytosine-total body irradiation as preparative regimen: a report from the French Society of Bone Marrow Graft (SFGM).
Blood 1995;**85**:2263-8.
159. **Blaise D, Maraninchi D, Archimbaud E, Reiffers J, Devergie A, Jouet JP, et al.**
Allogeneic BMT for AML in first remission: a randomized trial of a busulfan-Cytosine versus cytosine-TBI as preparative regimen: a report from the Group d'Études de la greffe de Moelle Osseuse.
Blood 1992;**79**:2578-82.
160. **Socié G, Clift RA, Blaise D, Devergie A, Ringden O, Martin PJ, et al.**
Busulfan plus cyclophosphamide compared with total-body irradiation plus cyclophosphamide before marrow transplantation for myeloid leukemia: long-term follow-up of 4 randomized studies.
Blood 2001;**98**:3569-74.
161. **Champlin RE, Perez WS, Passweg JR, Klein JP, Camitta BM, Gluckman E, et al.**
Bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: a randomized controlled study of conditioning regimens.
Blood 2007;**109**:4582-5.
162. **Storb R, Raff RF, Appelbaum FR, Deeg HJ, Graham TC, Schuening FG, et al.**
DLA-identical bone marrow grafts after low-dose total body irradiation: the effect of canine recombinant hematopoietic growth factors.
Blood 1994;**84**:3558-66.
163. **Terenzi A, Aristei C, Aversa F, Perruccio K, Chionne F, Raymondi C, et al.**
Efficacy of fludarabine as an immunosuppressor for bone marrow transplantation conditioning: preliminary results.
Transplant Proc 1996;**28**:3101.

164. **Kassim AA, Chinratanalab W, Ferrara JL, Mineishi S.**
Reduced intensity allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute leukemias: what is the best recipe?
Bone Marrow Transplant 2005;**36**:565-74.
165. **Diaconescu R, Flowers CR, Storer B, Sorrow ML, Maris MB, Maloney DG, et al.**
Morbidity and mortality with nonmyeloablative compared with myeloablative conditioning before hematopoietic cell transplantation from HLA-matched related donors.
Blood 2004;**104**:1550-8.
166. **Storb RF, Champlin R, Riddell SR, Murata M, Bryant S, Warren EH.**
Non-myeloablative transplants for malignant disease.
Hematology (AmSoc Hematol Educ Program) 2001:375-91.
167. **Giralt S, Thall PF, Khouri I, Wang X, Braunschweig I, Ippolitti C, et al.**
Melphalan and purine analog-containing preparative regimens: reduced-intensity conditioning for patients with hematologic malignancies undergoing allogeneic progenitor cell transplantation.
Blood 2001;**97**:631-7.
168. **Bensinger WI, Weaver CH, Appelbaum FR.**
Transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells mobilized by recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 1995;**86**:836-7.
169. **Bensinger WI, Martin PJ, Storer B, Clift R, Forman SJ, Negrin R, et al.**
Transplantation of bone marrow as compared with peripheral-blood cells from HLA-identical relatives in patients with hematologic cancers.
N Engl J Med 2001;**344**:175-81.
170. **Schmitz N, Beksac M, Hasenclever D, Bacigalupo A, Ruutu T, Nagler A, et al.**
Transplantation of mobilized peripheral blood cells to HLA-identical siblings with standard-risk leukemia.
Blood 2002;**100**:761-7.
171. **Blaise D, Kuentz M, Fortanier C, Bourhis JH, Milpied N, Sutton L, et al.**
Randomized trial of bone marrow versus lenograstim-primed blood cell allogeneic transplantation in patients with early-stage leukemia: a report from the Societe Française de Greffe de Moelle.
J Clin Oncol 2000;**18**:537-46.

172. **Couban S, Simpson DR, Barnett MJ, Bredeson C, Hubesch L, Howson-Jan K, et al.**
Arandomized multicenter comparison of bone marrow and peripheral blood in recipients of matched sibling allogeneic transplants for myeloid malignancies.
Blood 2002;100:1525-31.
173. **Stem Cell Trialists' Collaborative Group.**
Allogeneic peripheral blood stem-cell compared with bone marrow transplantation in the management of hematologic malignancies: an individual patient data meta-analysis of nine randomized trials.
J Clin Oncol 2005;23:5074-87.
174. **Zaucha JM, Gooley T, Bensinger WI, Heimfeld S, Chauncey TR, Zaucha R, et al.**
CD34 cell dose in granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood on nonuclear cell grafts affects engraftment kinetics and development of extensive chronic graft-versus-host disease after human leukocyte antigen-identical sibling transplantation.
Blood 2001;98:3221-7.
175. **Dhédin N, Chamakhi I, Perrault C.**
Evidence that donor intrinsic response to G-CSF is the best predictor of acute graft-versus-host disease following allogeneic peripheral blood stem cell transplantation.
Exp Hematol 2006;34:107-14.
176. **Przepiorka D, Smith TL, Folloder J, Khouri I, Ueno NT, Mehra R, et al.**
Risk factors for acute graft-versus-host disease after allogeneic blood stem cell transplantation.
Blood 1999;94:1465-70.
177. **Mohty M, Bilger K, Jourdan E, Kuentz M, Michallet M, Bourhis JH, et al.**
Higher doses of CD34+ peripheral blood stem cells are associated with increased mortality from chronic graft-versus-host disease after allogeneic HLA-identical sibling transplantation. *Leukemia* 2003;17:869-75.
178. **Pan L, Delmonte JJ, Jalonene CK, Ferrara JL.**
Treatment of donor mice with granulocyte colony-stimulating factor polarizes donor T lymphocytes toward type-2 cytokine production and reduces severity of experimental graft-versus-host disease.
Blood 1995;86:4422-9.

179. **Mielcarek M, Martin PJ, Torok-Storb B.**
Suppression of alloantigen-induced T-cell proliferation by CD14+ cells derived from granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood mononuclear cells. *Blood* 1997;**89**:1629-34.
180. **Arpinati M, Green CL, Heimfeld S, Heuser JE, Anasetti C.**
Granulocyte-colony stimulating factor mobilizes T helper 2-inducing dendritic cells. *Blood* 2000;**95**:2484-90.
181. **Miller JS, Propser F, McCullar V.**
Natural killer (NK) cells are functionally abnormal and NK cell progenitors are diminished in granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood progenitor cell collections. *Blood* 1997;**90**:3098-105.
182. **Gluckman E, Broxmeyer HE, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A.**
Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med* 1989;**321**:1174-8.
183. **Kurtzberg J, Laughlin M, Graham ML, Smith C, Olson JF, Halperin EC, et al.**
Placental blood as a source of hematopoietic stem cells for transplantation into unrelated recipients. *N Engl J Med* 1996;**335**:157-66.
184. **Gluckman E, Rocha V, Boyer-Chammard A, Locatelli F, Arcese W, Pasquini R, et al.**
Outcome of cord-blood transplantation from related and unrelated donors. Eurocord Transplant Group and the European Blood and Marrow Transplantation Group. *N Engl J Med* 1997;**337**:373-81.
185. **Rocha V, Wagner Jr. JE, Sobocinski KA, Klein JP, Zhang MJ, Horowitz MM, et al.**
Graft-versus-host disease in children who have received a cord-blood or bone marrow transplant from an HLA-identical sibling. Eurocord and International Bone Marrow Transplant Registry Working Committee on Alternative Donor and Stem Cell Sources. *N Engl J Med* 2000;**342**:1846-54.
186. **Barker JN, Davies SM, DeFor T, Ramsay NK, Weisdorf DJ, Wagner JE.**
Survival after transplantation of unrelated donor umbilical cord blood is comparable to that of human leukocyte antigen-matched unrelated donor bone marrow: results of a matched-pair analysis. *Blood* 2001;**97**:2957-61.

187. **Rocha V, Cornish J, Sievers EL, Filipovich A, Locatelli F, Peters C, et al.**
Comparison of outcomes of unrelated bone marrow and umbilical cord blood transplants in children with acute leukemia.
Blood 2001;**97**:2962-71.
188. **Rocha V, Labopin M, Sanz G, Arcese W, Schwerdtfeger R, Bosi A, et al.**
Transplants of umbilical-cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with acute leukemia.
N Engl J Med 2004;**351**:2276-85.
189. **Laughlin MJ, Eapen M, Rubinstein P, Wagner JE, Zhang MJ, Champlin RE, et al.**
Outcomes after transplantation of cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with leukemia.
N Engl J Med 2004;**351**:2265-75.
190. **Takahashi S, Iseki T, Ooi J, Tomonari A, Takasugi K, Shimohakamada Y, et al.**
Single-institute comparative analysis of unrelated bone marrow transplantation and cord blood transplantation for adult patients with hematologic malignancies.
Blood 2004;**104**:3813-20.
191. **Barker JN, Weisdorf DJ, DeFor TE, Blazar BR, Miller JS, Wagner JE.**
Rapid and complete donor chimerism in adult recipients of unrelated donor umbilical cord blood transplantation after reduced-intensity conditioning.
Blood 2003;**102**:1915-9.
192. **Barker JN, Weisdorf DJ, DeFor TE, Blazar BR, McGlave PB, Miller JS, et al.**
Transplantation of 2 partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy.
Blood 2005;**105**:1343-7.
193. **Scott I, O'Shea J, Bunce M, Tiercy JM, Arguello JR, Firman H, et al.**
Molecular typing shows a high level of HLA class I incompatibility in serologically well matched donor/patient pairs: implications for unrelated bone marrow donor selection.
Blood 1998;**92**:4864-71.
194. **Yakoub-Agha I, Mesnil F, Kuentz M, Boiron JM, Ifrah N, Milpied N, et al.**
Allogeneic marrow stem-cell transplantation from human leukocyte antigen-identical siblings versus human leukocyte antigen allelic-matched unrelated donors (10/10) in patients with standard-risk hematologic malignancy: a prospective study from the French Society of Bone Marrow Transplantation and Cell Therapy.
J Clin Oncol 2006;**24**:5695-702.

195. **Reisner Y,**
Martelli MF. Bone marrow transplantation across HLA barriers by increasing the number of transplanted cells.
Immunol Today 1995;16:437-40.
196. **Aversa F, Tabilio A, Velardi A, Cunningham I, Terenzi A, Falzetti F, et al.**
Treatment of high-risk acute leukemia with T-cell-depleted stem cells from related donors with one fully mismatched HLA haplotype.
N Engl J Med 1998;339:1186-93.
197. **Nguyen S, Dhedin N, Vernant JP, Kuentz M, Al Jijakli A, Rouas-Freiss N, et al.**
NK-cell reconstitution after haploidentical hematopoietic stem-cell transplantations: immaturity of NK cells and inhibitory effect of NKG2A override GvL effect.
Blood 2005;105:4135-42.
198. **Reddy P, Ferrara JL.**
Immunobiology of acute graft-versus-host disease.
Blood Rev 2003;17:187-94.
199. **Thornhill MH, Wellicome SM, Mahiouz DL, Lanchbury JS, Kyan-Aung U, Haskard DO.**
Tumor necrosis factor combines with IL-4 or IFN-gamma to selectively enhance endothelial cell adhesiveness for T cells. The contribution of vascular cell adhesion molecule-1-dependent and -independent binding mechanisms.
J Immunol 1991;146:592-8.
200. **Wysocki CA, Panoskaltsis-Mortari A, Blazar BR, Serody JS.**
Leukocyte migration and graft-versus-host disease.
Blood 2005;105:4191-9.
201. **Horowitz ME,**
Sullivan KM. Chronic graft-versus-host disease.
Blood Rev 2006;20:15-27.
202. **Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, Socie G, Wingard JR, Lee SJ, et al.**
National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report.
Biol Blood Marrow Transplant 2005;11:945-56

203. **Glucksberg H, Storb R, Fefer A, Buckner CD, Neiman PE, Clift RA, et al.**
Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HLA-matched sibling donors.
Transplantation 1974;18:295-304.
204. **Storb R, Deeg HJ, Whitehead J, Appelbaum F, Beatty P, Bensinger W, et al.**
Methotrexate and cyclosporine compared with cyclosporine alone for prophylaxis of acute graft versus host disease after marrow transplantation for leukemia.
N Engl J Med 1986;314:729-35.
205. **Antin JH, Kim HT, Cutler C, Ho VT, Lee SJ, Miklos DB, et al.**
Sirolimus, tacrolimus, and low-dose methotrexate for graft-versus-host disease prophylaxis in mismatched related donor or unrelated donor transplantation.
Blood 2003;102:1601-5.
206. **Cutler C, Li S, Ho VT, Koreth J, Alyea E, Soiffer RJ, et al.**
Extended follow-up of methotrexate-free immunosuppression using sirolimus and tacrolimus in related and unrelated donor peripheral blood stem cell transplantation. *Blood* 2007;109:3108-14.
207. **Ruutu T, Volin L, Parkkali T, Juvonen E, Elonen E.**
Cyclosporine, methotrexate, and methylprednisolone compared with cyclosporine and methotrexate for the prevention of graft-versus-host disease in bone marrow transplantation from HLA-identical sibling donor: a prospective randomized study.
Blood 2000;96:2391-8.
208. **Herve P, Cahn JY, Flesch M, Plouvier E, Racadot E, Noir A, et al.**
Successful graft-versus-host disease prevention without graft failure in 32 HLA-identical allogeneic bone marrow transplantations with marrow depleted of T cells by monoclonal antibodies and complement.
Blood 1987;69:388-93.
209. **Maraninchi D, Gluckman E, Blaise D, Guyotat D, Rio B, Pico JL, et al.**
Impact of T-cell depletion on outcome of allogeneic bone-marrow transplantation for standard-risk leukaemias.
Lancet 1987;2:175-8.
210. **Deeg HJ.**
How I treat refractory acute GVHD.
Blood 2007;109:4119-26.

211. **Doney KC, Weiden PL, Storb R, Thomas ED.**
Treatment of graft-versus-host disease in human allogeneic marrow graft recipients: a randomized trial comparing antithymocyte globulin and corticosteroids.
Am J Hematol 1981;11:1-8.
212. **Bay JO, Dhédin N, Goerner M, Vannier JP, Marie-Cardine A, Stamatoullas A, et al.**
Inolimumab in steroid-refractory acute graft-versus-host disease following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: retrospective analysis and comparison with other interleukin-2 receptor antibodies. *Transplantation* 2005;80:782-8.
213. **Levine JE, Paczesny S, Mineishi S, Braun T, Choi SW, Hutchinson RJ, et al.**
Etanercept plus methylprednisolone as initial therapy for acute graft-versus-host disease. *Blood* 2008;111:2470-5.
214. **Ho VT, Cutler C.**
Current and novel therapies in acute GVHD.
Best Pract Res Clin Haematol 2008;21:223-37.
215. **Kanold J, Merlin E, Halle P, Paillard C, Marabelle A, Rapatel C, et al.**
Photopheresis in pediatric graft-versus-host disease after allogeneic marrow transplantation: clinical practice guidelines based on field experience and review of the literature.
Transfusion 2007;47:2276-89.
216. **Le Blanc K, Frassoni F, Ball L, Locatelli F, Roelofs H, Lewis I, et al.**
Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study.
Lancet 2008;371:1579-86.
217. **Gilman AL, Serody J.**
Diagnosis and treatment of chronic graft-versus-host disease.
Semin Hematol 2006;43:70-80.
218. **Guihot A, Becquemin MH, Couderc LJ, Randrianarivelo O, Rivaud E, Philippe B, et al.**
Telemetric monitoring of pulmonary function after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.
Transplantation 2007;83:554-60.

219. **Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL, McDonald GB, Striker GE, Sale GE, et al.**
Chronic graft-versus host syndrome in man. Along-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients.
Am J Med 1980; **69**: 204-17.
220. **Mohty M, Kuentz M, Michallet M, Milpied N, Sutton L, Jouet JP, et al.**
Chronic graft-versus-host disease after allogeneic blood stem cell transplantation: long-term results of a randomized study.
Blood 2002; **100**:3128-34.
221. **Flowers ME, Parker PM, Johnston LJ, Matos AV, Storer B, Bensinger WI, et al.**
Comparison of chronic graft-versus-host disease after transplantation of peripheral blood stem cells versus bone marrow in allogeneic recipients: long-term follow-up of a randomized trial.
Blood 2002; **100**:415-9.
222. **Sullivan KM, Witherspoon RP, Storb R, Deeg HJ, Dahlberg S, Sanders JE, et al.**
Alternating-day cyclosporine and prednisone for treatment of high-risk chronic graft-versus-host disease.
Blood 1988; **72**: 555-61.
223. **Couriel DR, Saliba R, Escalón MP, Hsu Y, Ghosh S, Ippoliti C, et al.**
Sirolimus in combination with tacrolimus and corticosteroids for the treatment of resistant chronic graft-versus-host disease.
Br J Haematol 2005; **130**:409-17.
224. **Cutler C, Miklos D, Kim HT, Treister N, Woo SB, Bienfang D, et al.**
Rituximab for steroid-refractory chronic graft-versus-host disease.
Blood 2006; **108**:756-62.
225. **Greinix HT, Volc-Platzer B, Rabitsch W, Gmeinhart B, Guevara-Pineda C, Kalhs P, et al.**
Successful use of extracorporeal photochemotherapy in the treatment of severe acute and chronic graft-versus-host disease.
Blood 1998; **92**:3098-104.
226. **Koh MB, Prentice HG, Lowdell MW.**
Selective removal of alloreactive cells from haematopoietic stem cell grafts: graft engineering for GVHD prophylaxis.
Bone Marrow Transplant 1999; **23**:1071-9.

227. **Montagna D, Yvon E, Calcaterra V, Comoli P, Locatelli F, Maccario R, et al.**
Depletion of alloreactive T cells by a specific anti-interleukin-2 receptor p55 chain immunotoxin does not impair in vitro antileukemia and antiviral activity.
Blood 1999;**93**:3550-7.
228. **Guinan EC, Boussiotis VA, Neuberg D, Brennan LL, Hirano N, Nadler LM, et al.**
Transplantation of anergic histoincompatible bone marrow allografts.
N Engl J Med 1999;**340**:1704-14.
229. **Aversa F, Tabilio A, Terenzi A, Velardi A, Falzetti F, Giannoni C, et al.**
Successful engraftment of T-cell-depleted haploidentical "three-loci" incompatible transplants in leukemia patients by addition of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood progenitor cells to bone marrow inoculum.
Blood 1994;**84**:3948-55.
230. **Weiden PL, Sullivan KM, Flournoy N, Storb R, Thomas ED.**
Antileukemic effect of chronic graft-versus-host disease: contribution to improved survival after allogeneic marrow transplantation.
N Engl J Med 1981;**304**:1529-33.
231. **Horowitz MM, Gale RP, Sondel PM, Goldman JM, Kersey J, Kolb HJ, et al.**
Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation.
Blood 1990;**75**:555-62.
232. **Ruggeri L, Capanni M, Urbani E, Perruccio K, Shlomchik WD, Tosti A, et al.**
Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants.
Science 2002;**295**:2097-100.
233. **Mackall CL, Granger L, Sheard MA, Cepeda R, Gress RE.**
T-cell regeneration after bone marrow transplantation: differential CD45 isoform expression on thymic-derived versus thymic-independent progeny.
Blood 1993;**82**:2585-94.
234. **Mackall CL, Hakim FT, Gress RE.**
T-cell regeneration: all repertoires are not created equal.
Immunol Today 1997;**18**:245-51.

235. **Hazenberg MD, Otto SA, de Pauw ES, Roelofs H, Fibbe WE, Hamann D, et al.**
T-cell receptor excision circle and T-cell dynamics after allogeneic stem cell transplantation are related to clinical events.
Blood 2002;**99**:3449-53.
236. **Komanduri KV, St John LS, de Lima M, McMannis J, Rosinski S, McNiece I, et al.**
Delayed immune reconstitution after cord *Blood* transplantation is characterized by impaired thymopoiesis and late memory T-cell skewing.
Blood 2007;**110**:4543-51.
237. **Cordonnier C.**
Fungal infections: current diagnosis and treatment.
Hematol J 2004;**5**(suppl3):S59-S62.
238. **Ljungman P, de la Camara R, Cordonnier C, Einsele H, Engelhard D, Reusser P, et al.**
Management of CMV, HHV-6, HHV-7 and Kaposi sarcoma herpesvirus(HHV-8) infections in patients with hematological malignancies and after SCT.
Bone Marrow Transplant 2008;**42**:1-4.
239. **Stocchi R, Ward KN, Fanin R, Bacarani M, Apperley JF.**
Management of human cytomegalovirus infection and disease after allogeneic bone marrow transplantation.
Haematologica 1999;**84**:71-9.
240. **Walter EA, Greenberg PD, Gilbert MJ, Finch RJ, Watanabe KS, Thomas ED, et al.**
Reconstitution of cellular immunity against cytomegalovirus in recipients of allogeneic bone marrow by transfer of T-cell clones from the donor.
N Engl J Med 1995;**333**:1038-44.
241. **Kuehnle I, Huls MH, Liu Z, Semmelmann M, Krance RA, Brenner MK, et al.**
CD20 monoclonal antibody (rituximab) for therapy of Epstein-Barr virus lymphoma after hemopoietic stem-cell transplantation.
Blood 2000;**95**:1502-5.
242. **Papadopoulos EB, Ladanyi M, Emanuel D, Mackinnon S, Boulad F, Carabasi MH, et al.**
Infusions of donor leukocytes to treat Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders after allogeneic bone marrow transplantation.
N Engl J Med 1994;**330**:1185-91.

- 243. O'Reilly RJ, Small TN, Papadopoulos E, Lucas K, Lacerda J, Koulova L.**
Biology and adoptive cell therapy of Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders in recipients of marrow allografts.
Immunol Rev 1997;157:195-216.
- 244. Curtis RE, Rowlings PA, Deeg HJ, Shriner DA, Socie G, Travis LB, et al.**
Solid cancers after bone marrow transplantation.
N Engl J Med 1997;336:897-904.
- 245. Carreras E, Bertz H, Arcese W, Vernant JP, Tomás JF, Hagglund H, et al.**
Incidence and outcome of hepatic veno-occlusive disease after blood or marrow transplantation: a prospective cohort study of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. European Group for Blood and Marrow Transplantation Chronic Leukemia Working Party.
Blood 1998;92:3599-604.
- 246. Socié G, Salooja N, Cohen A, Rovelli A, Carreras E, Locasciulli A, et al.**
Late Effects Working Party of the European Study Group for Blood and Marrow Transplantation. Nonmalignant late effects after allogeneic stem cell transplantation.
Blood 2003;101:3373-85.
- 247. Drobyski WR, Endean DJ, Klein JP, Hessner MJ.**
Detection of BCR/ABL RNA transcripts using the polymerase chain reaction is highly predictive for relapse in patients transplanted with unrelated marrow grafts for chronic myelogenous leukaemia.
Br J Haematol 1997;98:458-66.
- 248. Kim DH, Jung HD, Kwack DH, Lee NY, Sohn SK, Baek JH, et al.**
Predicting outcomes of HLA-identical allogeneic stem cell transplants from variable number of tandem repeat disparity between donors and recipients.
Haematologica 2006;91:71-7.
- 249. Dazzi F, Szydlo RM, Cross NC, Craddock C, Kaeda J, Kanfer E, et al.**
Durability of responses following donor lymphocyte infusions for patients who relapse after allogeneic stem cell transplantation for chronic myeloid leukemia.
Blood 2000;96:2712-6.
- 250. Porter D, Levine JE.**
Graft-versus-host disease and graft-versus-leukemia after donor leukocyte infusion.
Semin Hematol 2006;43: 53-61.

251. **Cohen JL, Boyer O, Thomas-Vaslin V, Klatzmann D.**
Suicide genemediated modulation of graft-versus-host disease.
Leuk Lymphoma 1999;34:473-80.
252. **Ciceri F, Bonini C, Markt S, Zappone E, Servida P, Bernardi M, et al.**
Antitumor effects of HSV-TK-engineered donor lymphocytes after allogeneic stem-cell transplantation.
Blood 2007;109:4698-707.
253. **Lazarus HM, Koc ON, Devine SM, Curtin P, Maziarz RT, Holland HK, et al.**
Cotransplantation of HLA-identical sibling culture-expanded mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells in hematologic malignancy patients.
Biol Blood Marrow Transplant 2005;5:389-98.
254. **Edinger M, Hoffmann P, Ermann J, Drago K, Fathman CG, Strober S, et al.**
CD4+CD25+ regulatory T cells preserve graft-versus-tumor activity while inhibiting graft-versus-host disease after bone marrow transplantation.
Nat Med 2003;9:1144-50.
255. **Hoffmann P, Edinger M.**
CD4+CD25+ regulatory T cells and graftversus- host disease.
Semin Hematol 2006;43:62-9.
256. **Passweg JR, Tichelli A, Meyer-Monard S, Heim D, Stern M, Kühne T, et al.**
Purified donor NK-lymphocyte infusion to consolidate engraftment after haploidentical stem cell transplantation.*Leukemia* 2004;18:1835-8.
257. **Miller JS, Soignier Y, Panoskaltsis-Mortari A, McNearney SA, Yun GH, Fautsch SK, et al.**
Successful adoptive transfer and in vivo expansion of human haploidentical NK cells in patients with cancer.
Blood 2005;105:3051-7.
258. **Activité nationale de greffe de CSH. Agence de la biomédecine**
<https://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2013/donnees/cellules/04-national/pdf/csh-national.pdf>
259. **RM.Hamladji, R.AhmedNacer, M.Benakli, F.Mehdid, R.Belhadj, (2009)**
Bilan d'activité de l'unité de greffe de moelleosseuse du Centre Pierre et Marie Curie-
Alger
Service d'Hématologie-Greffe de moelle osseuse, CPMC, Alger
-

260. **Greffe de cellules soucheshématopoïétiques en Tunisie (2009).**
Centre National de Greffe de Moelle Osseuse, Tunis.
261. **N.Bellaoui, M.Lahsoune, N.Nourichafi.2010**
Greffe de cellules souches hématopoïétiques au Maroc : à propos de 87 cas
Stem cell transplantation in Morocco: Report of 87 cases
CHU Ibn Rochd Casablanca.1246-7820. Sciencedirect
262. **Bo Björkstranda, Anthony H. Goldstoneb, Per Ljungmana (2015)**
Prognostic Factors in Autologous Stem CellTransplantation for Multiple Myeloma: An
EBMTRegistry StudyInforma Ltd Registered in England and Wales
Registered Number: 1072954 Registered office: 5 Howick Place,London.
263. **Anna Czyz · Anna Lojko-Dankowska · Dominik Dytfeld.(2013).**
Prognostic factors and long-term outcome of autologous haematopoietic stem cell
transplantation following a uniformmodified BEAM-conditioning regimen for patients
with refractory or relapsed Hodgkin lymphoma: a single-center experience.
Department of Hematology, Poznan University of Medical Sciences, Szamarzewskiego 84,
61-569 Poznan, Poland Med Oncol30:611 DOI 10.1007/s12032-013-0611-y
264. **Daniel C, Douek, DC, Richard D et al. (1998).**
Changes in thymic functions with age and during the treatment of HIV infection .
NATURE, 396, 690-695.
265. **Mallouli F, Jenhani F et al.,(2010)**
La reconstitution immuno-hématologique en post allogreffe de moelle osseuse: Etude
prospective de 19 cas. Service d'immuno-hématologie pédiatrique, Centre Nationale de
Greffe de Moelle Osseuse de Tunis.
Laboratoire d'immunologie cellulaire et cytométrie, Centre Nationale de Transfusion
Sanguine de Tunis.
266. **Shaji K. Kumar, MD1; Martha Q. Lacy, MD1; (2012).**
Early Versus Delayed Autologous Transplantation After ImmunomodulatoryAgents-Based
Induction Therapy in Patients With Newly Diagnosed Multiple Myeloma
Cancer118:1585-92.
267. **Neil C. Dunavin 1, Lai Wei 2 , Patrick Elde3.(2012)**
Early versus delayed autologous stem cell transplant in patients receiving novel therapies
for multiple myeloma .1 Department of Internal Medicine, The Ohio State University
Medical Center, Columbus, OH, USA, 2 Center for Biostatistics, The Ohio State University,
Columbus, OH, USA, 3 Division of Hematology, Department of Medicine and The Ohio
State University Comprehensive Cancer Center, Columbus, OH, USA. 1029-2403

268. **Gerhard Ehninger¹ , Martin Bornhäuser ¹ , Markus Schaich ¹. (2013)**
Early Versus Late Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation in Patients with AML – Results From the Randomized AML 2003 Trial. Johannes Schetelig¹ .1 MedizinischeKlinik und Poliklinik I, Universitätsklinikum Carl Gustav Carus der TU Dresden;
Biol Blood Marrow Transplant 19 S211eS232.
269. **Base de données européenne ProMiSe (2010).**
Agence de la biomédecine. Rapport médical et scientifique.
270. **Selby, P. J., McElwain, T. J., Nandi, A. C., Perren, T. J., Powles, R. L., Tillyer, C. R., Osborne, R. J., Slevin, M. L. andMalpas, J. S. (1987)**
Multiple myeloma treated with highdose intravenous melphalan.
Br. J. Haematol., 66, 55–62.
271. **Harousseau, J. L., Attal, M., Reiffers, J., Caillot, D., Abgrall, J. F., Troussard, X., Boasson, M., Colombat, P., Lamy, T.,Facon, T., Gratecos, N., Aumeau, G. and Bataille, R. (1992)**
Autologous hemopoietic stem cell transplantation in multiplemyeloma.A report of the French Registry (abstract).
Blood, 80, 361a.
272. **Jean-Luc Harousseau, Michel Attal, Marine Divine, Gerald Marit (1995).**
Autologous Stem Cell Transplantation After First Remission InductionTreatment in Multiple Myeloma: A Report of the French Registry on Autologous Transplantation in Multiple Myeloma.
The American Society of Hematology.
273. **S Armitage , R Hargreaves , D Samson (1997).**
CD34 counts to predict the adequate collection of peripheral blood progenitor cells
Bone Marrow Transplantation, 20, 587-591 □ 1997 Stockton 0268-3369/97
274. **Schots R, Van Riet I, Damiaens S et al. (1996).**
The absolute number of circulating CD34+ cells predicts the number of hematopoietic stem cells that can be collected by apheresis.
Bone Marrow Transplant; 17: 509-515.
275. **Kátia Aparecida de Brito Eida,b*, Eliana Cristina Martins Mirandaa, Simone dos Santos Aguiara**
Mobilization and collection of CD34+ cells for autologous transplantation of peripheral blood hematopoietic progenitor cells in children: analysis of two different granulocyte-colony stimulating factor doses
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil Centro Infantil Boldrini, Campinas, SP, Brazil
rev bras hematolhemoter. 2015;37(3):160-166

276. **M. Zarrouk*1, A. Mejri2, Y. Ben Abdennebi2, H. Ben Neji3 (2013).**
Les facteurs de risque d'échec de recueil des cellules souches hématopoïétiques au cours du Myélome Multiple 1 Service d'hématologie, Hôpital Aziza Othmana ; Tunis, Tunisie ; 2 Service d'hématologie, Hôpital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie ; 3 Tunis, Hôpital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie
Hématologie, vol. 19.
277. **GORIN NC, NAJMAN A, DAVID R , STACHOWIAK J,**
Autogreffe de moelle osseuse après chimiothérapie lourde. Etude de la cinétique de réparation médullaire et sanguine sur 12 malades.
Nouv. Presse Med, 1978 ; 7 :4105-4110.
278. **HERVE P., ROZENBAUM A, PLOUVIER E, LAMY B, FLESH M**
Greffe de cellules souches hématopoïétiques autologues. Premiers résultats d'un protocole régional.
Nouv. Presse Med., 1981 ; 10 :2001-2005
279. **GORIN NC, NAJMAN A, DOUAY L, SALMON C, DAVID R**
Autologous bone marrow transplantation in the treatment of poor prognosis non Hodgkin's lymphomas.
Eur. J. Cancer Clin. Oncol., 1984 ; 20 :217-225.
280. **BEELEN DW, QUABECK K , GRAEVEN U, SAYER HG,**
Acute toxicity and first clinical results of intensive postinduction therapy using a modified Busulfan and Cyclophosphamide regimen with autologous bone marrow rescue in first remission of acute myeloid leukemia.
Blood, 1989;74:1507-1576.
281. **faculté de médecine de DIJON.**
Etude rétrospective des 30 premières autogreffes de moelle osseuse au centre hospitalo-universitaire de DIJON : analyse clinique et évaluation du cout thérapeutique.
282. **LAPORTE JP, GORIN NC, DOUAY L**
Autogreffe de moelle osseuse traitée par chimiothérapie in vitro (Asta Z 7557) en consolidation des leucémies aiguës de l'adulte en première rémission complète.
La Presse Médicale, 1987 ; 16 :338-342.
283. **BRANDWEIN JM, CALLUM J, SUTCLIFFE SB, SCOTT JG**
Analysis of factors affecting hematopoietic recovery after autologous bone marrow transplantation for lymphoma.
Bone marrow transpl. 1990; 6:291-294.

- 284. Pr. Faouzi JENHAN**
Etude de la reconstitution hématologique et immunologique en post greffe chez des enfants atteints de divers hémopathies malignes.
Année universitaire 2010-2011 *Ce travail a été effectué dans le laboratoire d'immunologie cellulaire, cytométrie et de thérapie cellulaire CNTS (*
Blood, 1989; 74:1898-1904
- 285. KORBLING M, HUNSTEIN W.FLIEDNER TM, CAYERUX S.**
Disease-free survival after autologous bone marrow transplantation in patients with acute myelogenous leukemia.
- 286. GORIN NC , David R, STACHOWIAK J, SALMON C, PETIT JC**
High dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation in adult leukemias, malignant lymphomas and solid tumors.A study of 23 patients.
- 287. MASCRET B, MARANINCHI D, GASTAUT JA, CAMERLO J et al**
Repeated high dose Melphalan with autologous bone marrow transplantation in acute non lymphotic leukemia.
Blood Tr. Immuno, 1985; 28: 477-488.
- 288. George B. McDonald, MD; Mary S. Hinds, RN; Lloyd D. Fisher,**
Veno-occlusive Disease of the Liver and Multiorgan Failure after Bone Marrow Transplantation: A Cohort Study of 355 Patients From the Fred Hutchinson Cancer Research Center and the University of Washington School of Medicine, Seattle, Washington.
Annals of Internal Medicine.1993;118:255-267.
- 289. Richard A., Nash, Margaret Sullivan Pepe, Rainer Storb**
Acute Graft-Versus-Host Disease: Analysis of risk factors after allogeneic marrow transplantation and prophylaxis with cyclosporine and methotrexate.
1992 by the American Society of Hematology.0006-4971/92/8007-0009\$3.00/0
- 290. M. Bourdelin , E. Daguindau , F. Larosa**
La mucite post-allogreffe de cellules souches hématopoïétiques: facteurs de risque, conséquences cliniques et prévention
Po[^]le pharmaceutique, CHRU de Besanc[^]on, 1, boulevard Fleming, 25000 Besanc[^]on, France b Service d'hématologie, CHRU de Besanc[^]on, 1, boulevard Fleming, 25000 Besanc[^]on, France c Inserm UMR 1098, établissement franc[^]ais du sang, 25000 Besanc[^]on, France
0369-8114/ _ 2014 Elsevier Masson SAS.

- 291. GORIN NC, NAJMAN A, DAVID R, STACHOWIAK J, HIRSCH MARIE F,**
Autogreffe de moelle osseuse après chimiothérapie lourde. Etude de la cinétique de réparation médullaire et sanguine sur 12 malades.
Nouv.Presse Med, 1978; 7 : 4105-4110
- 292. PIZZO PA, ROBICHAUD KJ, GILL FA, WITEBSKY FG**
Empiric antibiotic and antifungal therapy for cancer patients with prolonged fever and granulocytopenia.
AM.J. Med., 1982; 72:101
- 293. KIRK JL, GREENFIELD RA, SLEASE RB**
Analysis of early infectious complications after autologous bone marrow transplantation
Cancer, 1998: 62: 2445-2449.
- 294. SHERETZ RJ, BELANI A, KRAMER B**
Impact of air filtration on nosocomial aspergillus infection.
AM. J. Med.? 1987. 8/709-718.
- 295. KEYSLEY SM, NEWLAND AC, VAN DER WALTJ**
Pulmonary aspergillosis in patients with leukemia.
J.Clin.Pathol.1990;43:783.
- 296. WINSTON DJ, DUDNIK DV, CHAPIN M**
Coagulase-négative staphylococcal bacteremia in patients receiving immunosuppressive therapy
Arch.Intern.Med, 1983 : 143:32.
- 297. WINSTON DJ, HO WG, CHAMPLIN RE**
Infectious complications of bone marrow transplantation
Exp.Hematol., 1984;12: 205-215.
- 298. Lalit Kumar, Nida Iqbal, Anjali Mookerjee, Rakesh Kumar Verma.**
Complete response after autologous stem cell transplant in multiple myeloma.
Department of Medical Oncology and Laboratory Oncology Institute Rotary Cancer Hospital, All India Institute of Medical Sciences, New Delhi 1100 29, India (2014).
- 299. FREI E, CANELLOS GP**
Dose: a critical factor in cancer chemotherapy.
AM.J. Med., 1980; 69:585-594.

- 300. APPELBAUM FR, DEISSERTOTH AB, GRAW RG et al**
Prolonged complete remission following high dose chemotherapy of Burkitt's lymphoma in relapse.
Cancer, 1978; 41:1059-1063
- 301. Juan José Lahuerta, Maria Victoria Mateos, Joaquin Martínez-López**
Influence of Pre- and Post-Transplantation Responses on Outcome of Patients With Multiple Myeloma: Sequential Improvement of Response and Achievement of Complete Response Are Associated With Longer Survival.
Hospital del Rio Ortega, Valladolid; and Hospital General Universitario, Alicante, Spain. J Clin Oncol 26:5775-5782. © 2008 by American Society of Clinical Oncology
- 302. StigLenhoff, Martin Hjorth, Erik Holmberg.**
Impact on survival of high-dose therapy with autologous stem cell support in patients younger than 60 years with newly diagnosed multiple myeloma: a population-based study
The American Society of Hematology BLOOD, (2000)

قسم الطبيب

أقسم بالله العظيم

أن أراقب الله في مهنتي.

وأن أصون حياة الإنسان في كافة أطوارها في كل الظروف
والأحوال باذلة وسعي في انقاذها من الهلاك والمرض
والآلم والقلق.

وأن أحفظ للناس كرامتهم، وأستر عورتهم، وأكتم سرهم.
وأن أكون على الدوام من وسائل رحمة الله، باذلة رعايتي الطبية للقريب والبعيد،
للصالح والطالح، والصديق والعدو.

وأن أثابر على طلب العلم، وأسخره لنفع الإنسان لا لأذاه.
وأن أوقر من علمني، وأعلم من يصغرني، وأكون أختاً لكل زميل في المهنة
الطبية متعاونين على البر والتقوى.

وأن تكون حياتي مصداق إيماني في سري وعلانيتي، نقيّة مما يشينها تجاه
الله ورسوله والمؤمنين.

والله على ما أقول شهيدا

**حصوله نشاط وحدة زرع النخاع العظمي
بالمستشفى الجامعي محمد السادس بمراكش
2015 – 2012**

الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم 2017/01/12

من طرف

الآنسة منى الشافعي

المزداة في 16 يناير 1990 بأكادير

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية:

الخلايا الجذعية - الطعم الذاتي - الطعم المغاير - التكييف - مراكش.

اللجنة

الرئيس

السيد ل. مهمال

استاذ في أمراض الدم السريرية

المشرف

السيد إ. تازي

استاذ مبرز في أمراض الدم السريرية

السيدة م. خوشاني

أستاذة مبرزة في العلاج بالأشعة

السيد خ. حواش

استاذ مبرز في أمراض الدم الحيوية

السيدة س. زاوي

أستاذة مبرزة في علم العقاقير

الحكام

ClicCours.com