



ROYAUME DU MAROC

*Université Mohammed V -
Rabat Faculté de Médecine
et de Pharmacie*



RABAT

Année 2022

N° MS1562022

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE SPECIALITE MEDICALES EN :

IMMUNOLOGIE

Intitulé

**Autogreffe des cellules souches hématopoïétiques et
neuroblastome : facteurs influençant la prise de greffe**

**SERVICE D'IMMUNOLOGIE, DE TRANSFUSION SANGUINE, DE THERAPIE
CELLULAIRE ET BANQUE DE CELLULES ET TISSUS.**

Présenté PAR :

Docteur KAOUTAR AITIFISS

Encadré par :

Professeur ATOUF OUAFAE

Remerciements

A Madame le Professeur **Malika ESSAKALLI**, Chef de service de transfusion, d'immunologie et Banque de tissus et de cellules à l'hôpital d'enfants Rabat, de m'avoir encadré depuis mon intégration au Service mais aussi pour la confiance qu'elle m'a accordé en m'associant à toutes les missions et activités relevant de notre Service.

A Madame le Professeur **Ouafae ATOUF**, je la remercie pour son encadrement, sa disponibilité et ses précieux conseils. Elle m'a accompagnée sans relâche jusqu'à la rédaction finale de ce mémoire. Soyez assurée, Mme le Professeur, de mon profond respect et de ma sincère reconnaissance.

A Madame le Professeur **Sanae EL OUADGHIRI**, Docteur **Kaoutar ELMORABIT** et Docteur **Imane YAKHLEF** pour leurs contributions respectives et ô combien utiles pour la réalisation de ce mémoire.

A l'ensemble de l'équipe SHOP et en particulier, **Mmes Laila HESSISSEN et Maria EL KABABRI** et docteur **Mariam LAKHRISSE**.

Et à tout le personnel du **STSH**, médecins, techniciens et infirmiers, pour leurs encouragements et leur soutien continu.

Merci à toutes les personnes qui m'ont soutenu par leur sympathie, leur gentillesse et leur amitié.

Je remercie enfin les honorables membres du jury pour le temps précieux qu'ils vont consacrer à la lecture de ce mémoire.

SOMMAIRE

I. INTRODUCTION	1
II. REVUE DE LA LITTÉRATURE	3
1. Généralités sur le neuroblastome	3
1.1. Définition	3
1.2. Diagnostic	3
1.3. Prise en charge thérapeutique	5
1.4. Facteurs pronostiques	6
2. Physiologie des CSH.....	7
2.1. Origine et développement	7
2.2. Notion de niche hématopoïétique.....	7
2.3. Caractéristiques	9
2.4. Marqueurs phénotypiques et numération des CSH	10
3. Autogreffe de CSH.....	11
3.1. Mécanisme de mobilisation des CSH.....	11
3.2. Protocoles de mobilisation des CSH.	12
3.4. Cryoconservation des CSH	14
3.5. Décongélation du greffon	16
4. Réinjection et suivi de la prise de greffe	17
4.1. Reconstitution hématopoïétique des cellules immunitaires.....	17
4.2. Suivi de la prise de greffe.....	17
4.3. Facteurs prédictifs d'échec d'autogreffe de CSH.....	18
III. PATIENTS ET MÉTHODES.....	19
1. Patients	19
2. Recueil des CSH, qualification et conservation du greffon	19
3. Conditionnement et prise de greffe	20
4. Analyse statistique	20
IV. RESULTATS	22
1. Description épidémiologique et clinique des patients.....	22
2. Résultats de mobilisation et caractéristiques des greffons	22
3. Description de sortie d'aplasie.....	22
4. Résultat de l'analyse univariée.....	24
5. Résultat de l'analyse multivariée.....	26
V. DISCUSSION.....	27
VI. CONCLUSION	29

VIII. REFERENCES.....	30
VII. RÉSUMÉ.....	36

Liste des figures

Figure 1 : Schéma des différentes niches des cellules souches hématopoïétiques	8
Figure 2 : Schéma résumant le mécanisme de mobilisation des CSH induite par G-CSF	12
Figure 3 : Algorithme de recueil des CSH par cytophérèse selon le taux de cellules CD34 + dans le sang circulant après mobilisation par G-CSF seul.	14

Liste des tableaux

Tableau 1 : Tableau descriptif de la population étudiée.....	23
Tableau 2 : Résultats d'analyse univariée des facteurs influençant la sortie d'aplasie.....	25
Tableau 3 : Résultats d'analyse multivariée des facteurs influençant la sortie d'aplasie.....	26

Liste des abréviations

- **CSH** : Cellules souches hématopoïétiques
- **CSP** : Cellules souches hématopoïétiques périphériques
- **CSM** : Cellules souches mésenchymateuses
- **MO** : Moelle osseuse
- **CNT** : Cellules nucléées totales
- **NB / NBL** : Neuroblastome
- **MKI** : Mitosis-karyorrhexis index
- **HVA**: HomoVanillic Acide (HVA)
- **VMA** : VanillylMandelic Acide (VMA)
- **LDH** : Lacticodéshydrogénase
- **INPC** : International Neuroblastoma Pathology Classification
- **MIBG** : Meta-Iodo-Benzyl-Guanidine
- **COG** : Children's Oncology Group
- **INSS** : International Neuroblastoma Staging System
- **INRGSS**: International Neuroblastoma Risk Group Staging System
- **ISHAGE**: International Society of Hematotherapy and Graft Engineering
- **JACIE** : Joint Accréditation Comittee for ISCT Europe and EBMT
- **EBMT**: European Society for Blood and Marrow Transplant
- **ISCT**: International Society for Cell Therapy
- **7AAD** : 7-Aminoactinomycin D
- **CMF** : Cytométrie en flux
- **VEGF**: Vascular Endothelial Growth Factor
- **RC** : Rémission complète
- **TBRP** : Très bonne réponse partielle
- **RP** : Réponse partielle
- **NR** : Non-réponse
- **G-CSF**: Granulocyte colony-stimulating factor

I. INTRODUCTION

La greffe de cellules souches hématopoïétique (CSH) est définie par un apport de CSH sans rétablissement de la vascularisation d'un donneur à un receveur dans un but thérapeutique. L'allogreffe des CSH consiste à perfuser les CSH d'un donneur à un receveur de la même espèce. L'autogreffe des CSH est définie par l'injection des CSH périphérique (CSP) prélevés de l'individu lui-même à greffer. Elle constitue un support pour la restitution de l'hématopoïèse en post-chimiothérapie ablative pour les patients atteints de neuroblastome (NB) à haut risque. Auparavant, ces patients étaient condamnés à un traitement palliatif, avec une faible espérance de vie. Actuellement, grâce à l'inclusion de l'autogreffe de cellules CSH comme thérapeutique, le pronostic de ces patients a été amélioré [1]. La prise en charge des NB à haut risque passe par trois phases : la phase d'induction, la phase de consolidation et la phase d'entretien., L'autogreffe des CSH est indiquée dans la phase de consolidation, en post-chimiothérapie ablative. La réussite de l'autogreffe des CSH est cruciale car elle conditionne la durée d'aplasie, les complications à court terme, notamment les infections, ainsi que l'efficacité thérapeutique [2-3].

La réussite de l'autogreffe des CSP est définie selon les recommandations JACIE (Joint Accreditation Committee for ISCT Europe and EBMT) par la prise de greffe estimée à un taux de PNN > 500 / mm³ maintenu pendant trois jours successifs et dans les 14 jours qui suivent la réinjection du greffon. Plusieurs facteurs sont décrits dans la littérature étant capables d'influencer la prise de greffe. Ces facteurs peuvent être liés au patient, et à la gravité de sa maladie comme l'âge avancé au diagnostic, le statut de la maladie sous traitement, et l'état d'infiltration de la moelle osseuse (MO) par le processus tumoral. Tous ces éléments sont à l'origine de l'augmentation du nombre de lignes de chimiothérapie reçues. Ceci favorise d'autant plus la destruction de la MO, et conduit à une difficulté d'implantation des CSH dans leurs niches hématopoïétiques [4]. Il est également décrit l'impact de la richesse du greffon des CSH transfusé sur la réussite de la prise de greffe : plus le greffon est riche en cellules CD34+, plus la reconstitution hématopoïétique est précoce et efficace [5].

Dans ce travail, nous rapportons l'expérience de l'unité de thérapie cellulaire du CHU Ibn Sina de Rabat qui a été créée en 2015. Cette unité fait partie du service d'immunologie, de

transfusion sanguine, de thérapie cellulaire et banque de cellules et tissus (STSH) de l'hôpital d'enfant de Rabat. Elle comprend un local dédié à la préparation, la conservation et la distribution de greffons de CSH. Elle a pour mission d'assurer des prestations de thérapie cellulaire en cohérence avec les besoins médicaux, dans le cadre de l'autogreffe de CSH. Cette unité travaille en étroite collaboration avec le centre hospitalier d'oncologie pédiatrique (SHOP) dans la prise en charge les patients candidats à l'autogreffe des CSH.

L'objectif fondamental de notre étude est d'identifier les différents facteurs pouvant influencer la sortie d'aplasie, et d'évaluer leur impact sur la prise de greffe chez des patients ayant bénéficié d'une autogreffe des CSH par des greffons préparés au sein du STSH.

II. REVUE DE LA LITTÉRATURE

1. Généralités sur le neuroblastome

1.1. Définition

Le NB est une tumeur maligne solide extra-crânienne du jeune enfant. Il dérive des cellules à l'origine du système nerveux sympathique. Le NB primitif peut être observé dans toutes les localisations du tissu sympathique. Il touche préférentiellement les surrénales dans 47%, d'autres régions de l'abdomen dans 24% des cas et le thorax dans 15 % des cas [6]. Les métastases dans le NB sont expliquées par la capacité des cellules neuroblastiques tumorales à migrer et à se disséminer dans l'ensemble du corps, avec des sites de prédilection, à savoir l'os, la MO, le système lymphatique, le foie et la peau.

Le NB représente 7 à 8 % des cancers pédiatriques [7]. Il a une légère prédominance masculine avec un sexe ratio de 1.6 [8]. Il est caractérisé par son extrême hétérogénéité, liée à la diversité de la symptomatologie clinique du patient, ainsi qu'à l'évolution spontanée de la tumeur qui peut dans certains cas régresser, ou au contraire, évoluer vers des métastases, avec une résistance à la chimiothérapie. Cette hétérogénéité peut être expliquée par certains facteurs tels que l'âge au diagnostic, le stade de la maladie et les caractéristiques histologiques de la tumeur. Ces facteurs impactent à la fois le pronostic, ainsi que les possibilités thérapeutiques à envisager.

1.2. Diagnostic

Le diagnostic positif du NB passe par l'interrogatoire et l'examen clinique du patient, complété par un bilan biologique, histologique et radiologique, permettant de répondre à trois objectifs qui conditionnent la prise en charge du NB :

- Confirmer la suspicion du NB ;
- Évaluer l'extension tumorale ;
- Définir le stade du NB pour envisager une stratégie thérapeutique adaptée.

❖ Signes cliniques

La présentation clinique du NB dépend de la localisation tumorale. Elle dépend de la tumeur primitive et les signes liés à la présence de métastases.

- Douleurs abdominales trainantes, douleurs pelviennes associées à des troubles neurologiques (paralysie du membre inférieur, troubles de miction et de défécation) ; douleurs osseuses variables (rhumatisme et boiterie) associées à des métastases de MO ;
- Hématome de l'orbite ou « Syndrome de Hutchinson », syndrome opsomyoclonique « Dancing eyes syndrome », ou « syndrome de Pepper » qui survient chez le nourrisson, il s'agit d'une hépatomégalie associée ou non à des nodules bleutés sous cutanés, avec des troubles respiratoires ;
- Singes généraux : fatigue générale due aux douleurs osseuses associée à une asthénie, fièvre et syndrome inflammatoire ; hypertension artérielle.

❖ Bilan biologique

- **Catécholamines urinaires**+++ Ils ont une très grande valeur diagnostique et permettent de suivre l'évolution de la tumeur.
- **Lacticodéshydrogénase (LDH)** : Un taux élevé de LDH est également corrélé à un pronostic défavorable [9].
- **Ferritine** : considérée comme facteur pronostique défavorable dans l'évolution des NB [10].

❖ Bilan histologique

La confirmation diagnostique du NB repose sur l'étude histologique, cytologique et immunologique du tissu tumoral grâce à des myélogrammes, des biopsies ostéomédullaires voire des biopsies du site tumoral.

- **Histologie de la tumeur** : la classification internationale des pathologies du neuroblastome (INPC) a été instaurée en 1999, pour mettre à jour les facteurs histologiques impactant le pronostic [11], à savoir la quantité de développement du stroma schwannien et le degré de différenciation de la tumeur. Le mitosis-karyorrhexis index (MKI) reflète la réplication cellulaire observée par microscope à haute puissance.

- **Étude de l’amplification de l’oncogène NMYC** : représente le premier biomarqueur génétique cliniquement pertinent dans le NB, et constitue le prédicteur le plus fort de la maladie à haut risque [12].
- **Ploïdie des cellules tumorales** : la tumoroploïdie est considérée comme facteur pronostique. Les tumeurs ayant un indice d'ADN inférieur ou égal à 1 ont des résultats moins bons que les tumeurs hyperdiploïdes [13].
 - ❖ Bilan radiologique d’extension locorégionale

Les résultats du bilan radiologique permettent aux chirurgiens de définir la possibilité d’exérèse tumorale.

1.3. **Prise en charge thérapeutique**

Le NB à haut risque présente la seule indication d’autogreffe des CSH dans le NB. Au Maroc, les NB à haut risque sont traités par le protocole HR-NBL MA 2010 [14], qui se déroule en trois phases :

- **Phase d’induction** : la chimiothérapie d’induction de première ligne est administrée en cinq cures [13]. Entre la 2^{ème} et la 3^{ème} cure, le prélèvement des CSH par cytophérèse est réalisé. La chirurgie d’exérèse tumorale est effectuée après la 5^{ème} cure de chimiothérapie. Pour les patients qui ne répondent pas à la première ligne de chimiothérapie, une chimiothérapie de rattrapage est indiquée, et est considérée comme une deuxième ligne de chimiothérapie.
- **Phase de consolidation** : la chimiothérapie myéloablatrice à base de *Busulfan* et de *Mélphalan* est administrée dans un premier temps, suivi de l’autogreffe des CSH. La chimiothérapie a pour but la destruction de toutes les cellules tumorales de la MO, mais vu sa toxicité, mêmes les cellules normales sont lésées. Par conséquent, la MO devient complètement détruite. Pour rétablir sa fonction médullaire, l’autogreffe des CSH est donc obligatoirement indiquée. Les CSH qui sont déjà prélevées par cytophérèse sont administrées aux patients par voie intraveineuse. Ces cellules sont caractérisées par leur capacité à rejoindre les cavités médullaires pour remplacer les cellules détruites et assurer leur fonction d’hématopoïèse. C’est une phase décisionnelle dans la prise en charge des

patients, et conditionne la réussite de l'autogreffe des CSH. L'échec de cette dernière expose les patients aux risques d'infection sévère et de décès.

- **Phase d'entretien** : l'utilisation de l'acide rétinoïque seul ou en association avec l'anticorps chimérique monoclonal « anti-ganglioside 2 » est primordiale dans la prise en charge des NB à haut risque car le risque de rechute s'élève à 50 % [15].

La prise en charge thérapeutique nécessite une évaluation de l'efficacité du traitement, avant l'autogreffe des CSH pour déterminer le statut de la maladie qui impacte la prise de greffe [3], et après l'autogreffe des CSH pour le suivi du malade à long terme. Les critères d'évaluation sont définis par l'INSS [16] comme suit :

- **Rémission complète (RC)** : disparition des cibles tumorales primitives et métastatiques et taux des catécholamines urinaires normalisé.
- **Très bonne réponse partielle (TBRP)** : diminution de la tumeur primitive de plus de 90 % avec disparition des métastases et taux des catécholamines normales.
- **Réponse partielle (RP)** : diminution de la tumeur primitive et de tous les sites métastatiques à 50 % avec un seul site de MO positif permis. À condition qu'il n'y ait pas de progression tumorale.
- **Non-réponse (NR)** : diminution de moins de 50 % ou bien une augmentation de moins de 25 % de la masse tumorale.

1.4. Facteurs pronostiques

Le groupe d'oncologie pédiatrique (COG) [13] définit les facteurs de mauvais pronostic qui peuvent être à l'origine de l'échec du traitement et même de l'autogreffe des CSH :

- Âge du patient au moment du diagnostic qui dépasse 18 mois. Le pronostic est favorable chez les NB âgés de 12 à 18 mois par rapport aux enfants plus âgés.
- Stade de la maladie « NB à haut risque ». La nécessité de plusieurs lignes de chimiothérapie est à l'origine de la destruction de la MO, et par conséquent aboutit à l'échec d'implantation des CSH dans un microenvironnement médullaire altéré [3].
- Quantité du développement des cellules schwanniennes et le degré de différenciation de la tumeur > 4% selon le MKI présentent des facteurs de mauvais pronostic.

- Taux de LDH supérieur à 750 U/L et/ou ferritinémie supérieur à 143 ng/ml sont corrélés à un pronostic plus défavorable.
- Oncogène NMYC amplifié (à tous âges et stade du NB) qui est associées aux tumeurs de stade avancés [11], et/ou DNA Index <1 quand les tumeurs ne subissent pas de mutation génétique qui stimule le système immunitaire anti-tumorale [13].

2. Physiologie des CSH

2.1. Origine et développement

Les CSH ont été découvertes en 1908 par Alexander Maksimov qui a proposé le terme des « cellules souches » pour la première fois [17]. Ensuite, en 1961, les deux médecins Dr Ernest McCulloch et Dr James Till ont confirmé l'existence de CSH [18]. Ces cellules sont définies par leur capacité à produire toutes les lignées hématopoïétiques. Jusqu'à ce jour, une cellule unique est définie comme étant à l'origine des CSH, c'est l'hémangioblaste. Elle dérive des cellules du mésoderme au cours de la 3^{ème} semaine de vie embryonnaire au niveau du sac vitellin. Ces cellules vont subir une série de maturations après leur spécification pour devenir soit des CSH, soit des cellules souches mésenchymateuses (CSM). Par la suite, le développement des CSH passe par plusieurs sites anatomiques du sac vitellin, la région aorte-gonades-mésonephros (AGM), le placenta et enfin le foie fœtal. A la naissance, les CSH colonisent la MO et elles résident en phase de repos. Au cours de la vie postnatale, le pool des CSH est maintenu en homéostasie par la régulation de l'autorenouvellement et la différenciation des CSH.

2.2. Notion de niche hématopoïétique

En 1978, Schofield a émis l'hypothèse de la présence des cellules à proximité des cellules souches, nommées la niche des cellules souches, qui ont la capacité d'orienter le destin des cellules souches en exerçant une influence extrinsèque [19]. Actuellement, on distingue trois types : la niche ostéoblastique, la niche vasculaire et les adipocytes (Figure1).

- **La niche ostéoblastique** : est construite par les ostéoblastes qui sont produites par les CSM, et elles sont impliquées dans la formation de l'os. Les CSH interagissent avec des ostéoblastes particuliers nommées spindle-shaped N Cadherin+CD45- Osteoblastic (SNO). Ces cellules expriment des molécules d'adhésion qui sont la N-cadherine et la β -

catenine dans le but de maintenir les CSH dans la MO. Plus le nombre des ostéoblastes SNO est augmenté, plus les CSH sont retrouvées au niveau de la MO [20].

- **La niche vasculaire** : il est prouvé que les cellules endothéliales ont la capacité de retenir les CSH. Ceci est confirmé in vivo par la découverte des CSH en contact avec les cellules endothéliales des sinusoides vasculaires au niveau de la MO. La niche vasculaire représente le lieu de prolifération et de différenciation des CSH, ainsi qu'un lieu de stockage caractérisé par la mobilisation rapide des cellules différenciées dans la circulation sanguine en cas de situation de stress. Le maintien des CSH et leur survie sont assurés par les facteurs angiogéniques, à savoir le VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) qui est un régulateur principal de la formation des vaisseaux sanguins [20].
- **Adipocytes** : avec l'âge, ces cellules remplacent progressivement la moitié de la MO, et par conséquent, l'hématopoïèse diminue. La présence de graisse au niveau de la MO est inversement proportionnelle à son activité hématopoïétique [21].

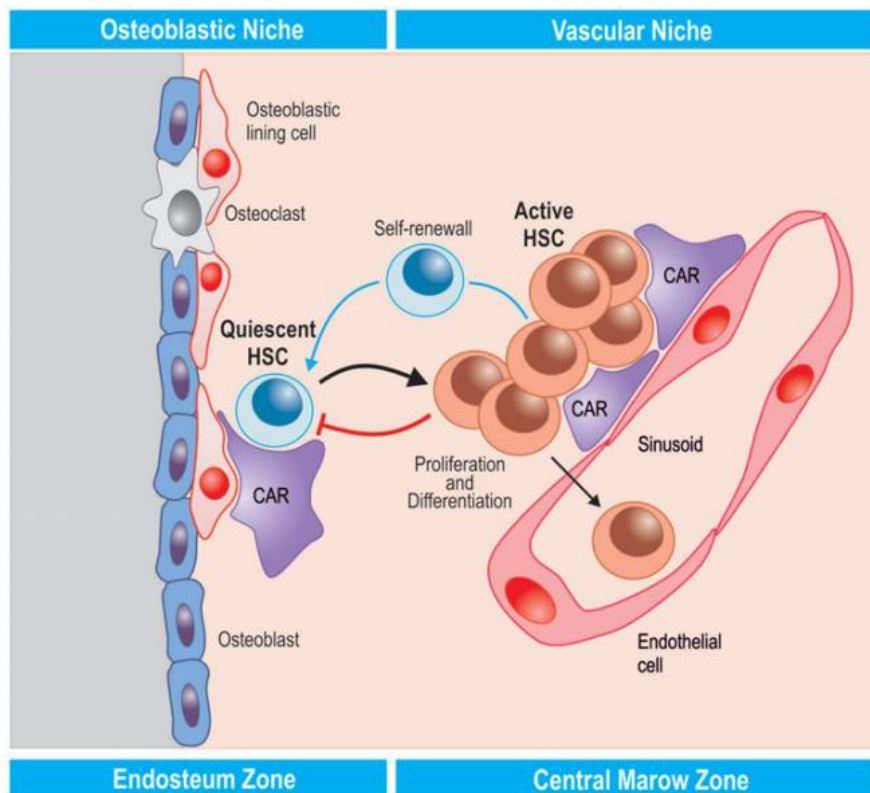


Figure 1 : Schéma des différentes niches des cellules souches hématopoïétiques [22].

2.3.Caractéristiques

Les CSH sont caractérisées par :

- **L'autorenouvellement** : les CSH sont des cellules capables de se renouveler pour une longue période par divisions cellulaires, dont le but d'assurer l'homéostasie de pool des CSH, tout en gardant l'équilibre physiologique entre l'apoptose et la division cellulaire.
- **La totipotence** : les CSH ont la capacité de donner toutes les cellules sanguines et se différencier en des cellules spécialisées dotées d'une fonction bien précise selon le processus d'hématopoïèse. Les CSH restent quiescentes pendant plusieurs semaines voire des mois [23]. Suite à un besoin physiologique normal ou un état de stress tel qu'une hémorragie, une infection ou une chimiothérapie, elles s'activent et débutent leur cycle d'autorenouvellement et de différenciation pour répondre au besoin en cellules sanguines. Dès que le besoin est compensé, le taux des cellules sanguines revient à la normale car les processus anti-apoptotiques et prolifératifs s'arrêtent, et la cinétique de l'hématopoïèse revient aux niveaux de base. Plusieurs études ont montré que les CSH se divisent de façon non régulière : divisions symétrique et non symétrique [19]. Concernant la division symétrique, la cellule souche mère se divise en deux cellules filles dirigées au même destin. Elles produisent soit deux cellules filles souches, soit deux progéniteurs [19]. Pour la division mitotique asymétrique, les ARNm et/ou les protéines du cytoplasme sont répartis en quantités inégales entre les deux cellules filles. Cette répartition est responsable du devenir des cellules filles car une de ces cellules va s'occuper du renouvellement du pool des CSH qui reste proche de la niche ostéoblastique, et l'autre cellule va entrer dans un processus de différenciation et de maturation en s'éloignant de la niche ostéoplastique vers la niche vasculaire pour passer dans la circulation sanguine. Le processus de l'hématopoïèse se déroule en quatre étapes successives : de la cellule souche totipotentes qui se développe en progéniteurs (cellules engagées dans un lignage cellulaire et ayant perdu la capacité d'autorenouvellement et de multipotence), puis en précurseurs (cellules capables de proliférer, se diviser et devenir mature par la suite), et enfin en cellules matures (cellules fonctionnelles sanguines). Le passage d'une étape à l'autre dans l'hématopoïèse, la régulation de la

quiescence cellulaire, l'apoptose, la prolifération ainsi que la différenciation sont assurés par les éléments suivant :

- Les cytokines, y compris, les médiateurs de la croissance et de la différenciation cellulaires tels que la C-Src phosphoinositides, la protéine kinase C. Ainsi, l'interleukine-3 et le GM-CSF induisent la prolifération cellulaire, alors que d'autres cytokines tel le ligand flt-3 et le ligand kit, protègent les cellules contre l'apoptose, et les sensibilisent aux effets des cytokines qui favorisent la croissance [24-25]. La chimiokine SDF-1 (qui se fixe au récepteur CCXR4) est essentielle au trafic des CSH. Elle permet l'acheminement des CSH et des progéniteurs vers la MO après la transplantation, ainsi que leur passage vers la circulation sanguine lors de la mobilisation [26].
- Des cellules hématopoïétiques et non hématopoïétiques qui peuvent réguler l'hématopoïèse [27-28] comprenant les cellules NK, les cellules T, les macrophages et peut-être même les neurones. Ces cellules s'activent et suppriment l'action des ostéoblastes en diminuant sa production au CXCL2. Les adipocytes jouent un rôle dans le transport des CSH vers la circulation sanguine.
- Un certain nombre de nutriments, d'oligo-éléments et de vitamines (par exemple le zinc, le sélénium, le cuivre, les vitamines A, D et E) sont également essentiels à l'hématopoïèse. Les rétinoïdes jouent un rôle important dans la différenciation et ils sont utilisés comme traitement d'entretien dans les NB en post-greffe des CSH.

2.4. Marqueurs phénotypiques et numération des CSH

Les CSH sont des petites cellules quiescentes exprimant à leur surface la glycoprotéine CD34, qui est considérée comme le marqueur phénotypique de choix permettant d'identifier de manière certaine les CSH [29]. Les CSH dotées d'autorenouveaulement pour une longue durée, et ayant comme phénotype les cellules CD34+ CD38-CD90+ CD45R-Lin-, sont définies comme les CSH d'intérêt [30]. La technique de dosage des CSH CD34 + recommandée est la cytométrie en flux (CMF), qui est proposée par l'International Society of Hematotherapy and Graft Engineering (ISHAGE) [31], actuellement devenue

International Society for Cell Therapy (ISCT) [32]. Il faut toujours évaluer la viabilité des cellules nucléées totales (CNT) et des CSH par exclusion des cellules mortes avec une technique de numération au bleu trypan ou marquage au 7-Aminoactinomycin D (7AAD) par CMF. En effet, l'évaluation de la viabilité est très importante après prélèvement lorsque les CSH doivent être congelées et cryopréservées. Le dosage des CSH CD34+ est fait sur des prélèvements de sang veineux pour évaluer la mobilisation des CSH, sur les produits d'aphérèse (greffons de CSH), avant la cryoconservation et après leur décongélation, pour évaluer la richesse du greffon. Le dénombrement des cellules CD34+ circulantes dans le sang total est réalisé grâce à l'utilisation de deux anticorps monoclonaux : l'anti-CD34 et l'anti-CD45, couplés à des fluorochromes pour identifier les différentes populations cellulaires et donc les CSH.

3. Autogreffe de CSH

3.1. Mécanisme de mobilisation des CSH

Plusieurs molécules capables de mobiliser des cellules progénitrices hématopoïétiques en circulation sanguine sont autorisées. Le G-CSF et le GM-CSF représentent les deux cytokines approuvées par la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis, et sont les plus couramment utilisées pour la mobilisation. L'utilisation de G-CSF seul pour mobilisation des CSH donne de meilleures collectes de cellules CD34+ par rapport au GM-CSF seul [33]. Le G-CSF déclenche au niveau de la CSH plusieurs modifications, notamment l'expansion des neutrophiles, la stimulation des macrophages CD169+ de la MO, du système nerveux sympathique périphérique, des ostéocytes et des ostéoMacs (Figure 2). Ces trois derniers suppriment les ostéoblastes et automatiquement la production du CXCL12, qui constitue une chimiokine de rétention de la CSH avec son ligand CXCR4. La stimulation des macrophages CD169+ par le système nerveux sympathique supprime aussi la formation du CXCL12. L'expansion granulocytaire donne des enzymes protéolytiques qui dégradent les facteurs de rétention, notamment CXCL12 et VCAM1 [34-35]. L'ensemble de ces facteurs provoque une altération de la niche et la rend moins attractive pour les CSH, ce qui permet leur sortie dans la circulation sanguine périphérique sous l'influence du gradient du lipide bioactif sphingosine 1-phosphate (S1P), qui est un chimio-attractant pour les CSH [36].

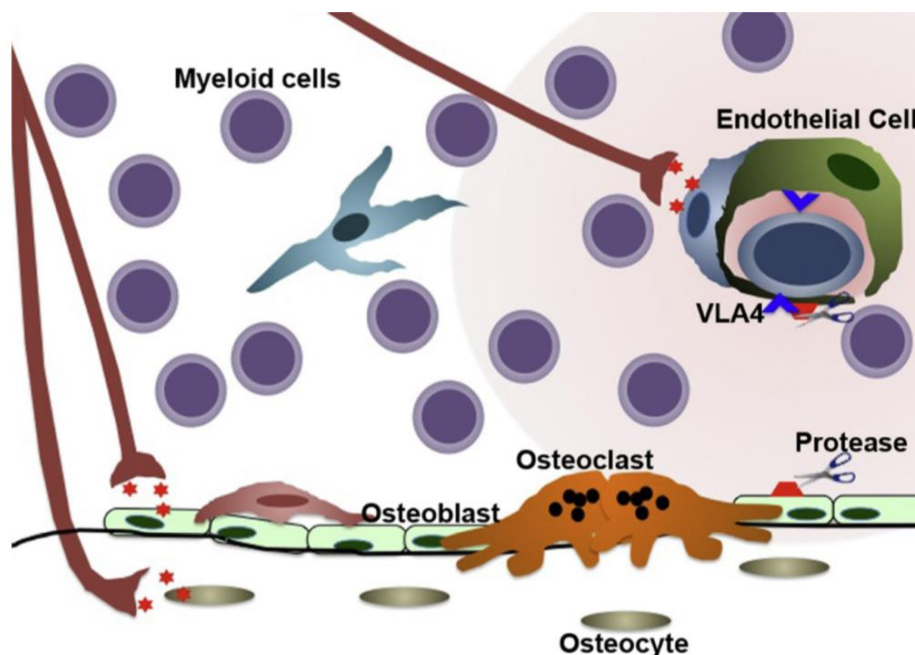


Figure 2 : Schéma résumant le mécanisme de mobilisation des CSH induite par G-CSF [37].

3.2. Protocoles de mobilisation des CSH.

Les CSH périphériques (CSP) peuvent être mobilisées selon trois modalités : soit l'association de chimiothérapie avec le facteur de croissance (G-CSF), soit l'utilisation du G-CSF seul à l'état basal. En cas d'échec des deux méthodes, de nouveaux traitements comme le *Plerixafor* sont utilisés.

- Mobilisation par le G-CSF seul : la posologie minimale de G-CSF recommandée est de 10 mg/kg/j pour réussir la mobilisation des CSH. Le recueil est programmé à partir de j5 de prise chez l'adulte et peut-être un peu avancé à j4 chez l'enfant.
- Mobilisation par le G-CSF en association avec la chimiothérapie : son association avec le G-CSF est indiquée dans certaines pathologies pour intensifier la mobilisation des CSH. La dose de G-CSF recommandée est de 5 mg/kg/j selon l'AMM, d'autres centres utilisent 10 mg/kg/j [38].
- Mobilisation par *Plerixafor* (Mozobil®) : il s'agit d'un antagoniste du récepteur de chimiokine CXCR4 qui bloque la liaison de CXCR4 à son ligand analogue le CXCL12, ce qui permet de libérer les CSH. Il est utilisé seul ou en association avec G-CSF. Il est préconisé en cas d'échec de mobilisation par G-CSF [39].

3.3. Cytaphérèse et algorithme de recueil de CSH

Le recueil de CSP est effectué par cytophérèse, une circulation extracorporelle du sang qui permet de séparer les différents composants du sang en couches, selon un système de centrifugation qui tient en compte les différences de taille, de poids et des propriétés de sédimentation. Ceci permet d'isoler la couche des cellules mononucléées dans laquelle les CSP sont situées. En principe, trois masses sanguines sont traitées. La quantité des CSP prélevées dépend de la quantité de CSH présentes dans le sang périphérique. Le volume du concentré des CSP prélevé est entre 200 à 300 ml.

La décision de cytophérèse est déterminée par le taux de CSH CD34+ présentes dans le sang veineux. Ce taux est évalué à j+4 de prise de G-CSF. Il permet de prédire si la cytophérèse va répondre à l'objectif de collecte des CSH, qui est défini par une richesse du greffon de 3 à 4. 10^6 CD34+/kg en cas d'autogreffe.

La cytophérèse est réalisée à J+5 de prise de G-CSF et quand le taux de cellules CD34+ est supérieur à 20/ μ L. En deçà de 20 cellules CD34 +/ml, la probabilité d'obtenir un greffon riche est incertaine. L'algorithme suivant permet de décider dans le recueil des CSH (Figure 3) :

- Entre 10 et 20 cellules CD34 +/ml : une première séance d'aphérèse est réalisée en prévoyant l'utilisation du *Plerixafor* pour une 2ème cytophérèse le lendemain. Si le résultat de la collecte est insatisfaisant ($< 1,5 \times 10^6$ cellules CD34+/kg), l'injection du *Plerixafor* est recommandée.
- Au-dessous de 5 cellules CD34 +/mL : les résultats de la mobilisation sont aléatoires et la décision de mobiliser par le *Plerixafor* est vivement recommandée.

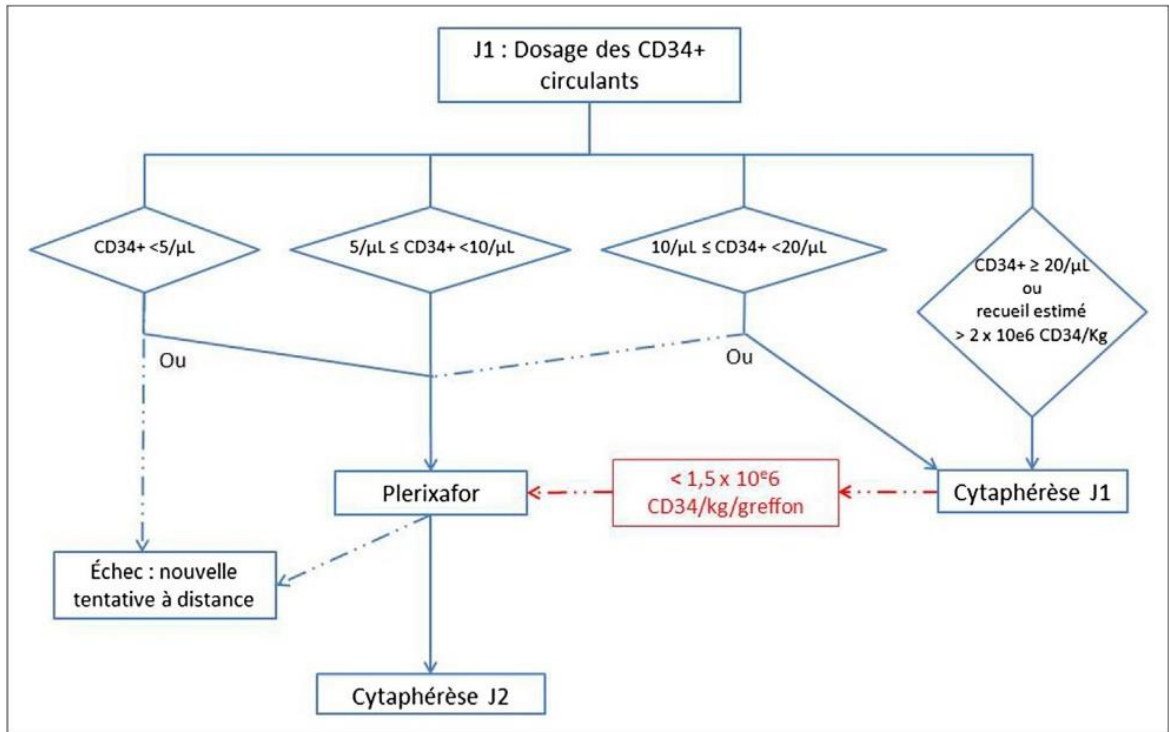


Figure 3 : Algorithme de recueil des CSH par cytoaphérèse selon le taux de cellules CD34 + dans le sang circulant après mobilisation par G-CSF seul [40].

3.4. Cryoconservation des CSH

La conservation du greffon de CSH au niveau des banques de cellules consiste essentiellement en sa congélation. Les CSH sont viables pour une durée de 24 heures dans une température comprise entre +4°C et +10°C. La congélation à une température très basse permet de prolonger leur durée de conservation pour des dizaines d'années [41]. Par ailleurs, la cryoconservation des CSH doit respecter certains facteurs pour garantir son succès. Ces facteurs sont la vitesse de congélation, les conditions de stockage avant congélation, la concentration des cellules et la température finale de stockage [42]. La cryoconservation des CSH repose essentiellement sur l'utilisation d'une solution cryoprotectrice, un refroidissement par une méthode de descente contrôlée en température, puis la conservation en azote liquide ou gazeux.

❖ Solution cryoprotectrice

Lors de la congélation, les CSH subissent des événements intra et extracellulaires qui peuvent être à l'origine de leur altération à savoir la formation des cristaux de glace extracellulaires capable de déchirer la membrane cellulaire et de déshydrater la cellule. Pour

éviter ces phénomènes, l'utilisation d'une solution cryoprotectrice aide les cellules à survivre aux stress de la congélation et de la décongélation est primordiale. On distingue deux agents cryoprotecteurs : le glycérol et le diméthylsulfoxyde (DMSO). Le glycérol est moins toxique pour les CSH que le DMSO, mais il cause des problèmes osmotiques après décongélation [43].

Le DMSO est un solvant polaire capable de former des liaisons hydrogènes avec les molécules d'eau et les phospholipides membranaires. Son rôle à faible concentration de 10% est de protéger les membranes cellulaires par amincissement sans détruire leur structure, d'augmenter la fluidité du noyau, d'éviter la cristallisation d'eau, de ralentir les échanges d'eau et de réduire la concentration intracellulaire en électrolytes [44]. Il est donc important de choisir la concentration appropriée du cryoprotecteur à utiliser pour préserver l'intégrité structurelle, ainsi que la viabilité des cellules après congélation [45].

La solution cryoprotectrice est préparée par l'utilisation du DMSO dilué à 20 % dans une solution macromoléculaire (Sérum albumine (HSA 4 %) , hydroxy-éthyl-amidon (HEA) ou plasma autologue), pour obtenir une concentration finale à 10 % de DMSO [46] après son mélange avec le produit cellulaire de CSH. La préparation de solution cryoprotectrice et des cryocytes est réalisée dans des salles blanches stériles pour éviter le risque de contamination microbienne.

❖ **Congélation à température en décence progressive**

Dans le cas de réfrigération rapide et sans utilisation de solution cryoprotectrice, les CSH ralentissent leur métabolisme cellulaire et produisent à une température de 0° à -20°C des cristaux de glace dans le milieu extracellulaire, ce qui provoque une déshydratation cellulaire par passage d'eau vers le milieu congelé. Lorsque le processus de refroidissement est rapide, des cristaux de glace intracellulaires se forment avant la fin de déshydratation cellulaire et éclatent la cellule. Ainsi, le refroidissement lent est crucial pour éviter la formation des cristaux de glace intracellulaires, d'autant plus qu'il permet de limiter le pic de surfusion qui est dû à une agitation mécanique des électrons nucléaires suite au choc thermique. Après le point de nucléation, le refroidissement se poursuit jusqu'à une température d'au moins -80 °C [37]. Ceci, nécessite l'utilisation d'un appareil qui permet de maîtriser et de tracer la

baisse en température par injection programmée d'azote. Il permet de visualiser la courbe propre à la poche témoin et la courbe propre à l'enceinte de refroidissement en vue de validation [47].

❖ **Congélation définitive**

Une fois la température cible est atteinte, le transfert des cryocytes dans des cuves d'azote liquide ou en vapeur pour une congélation définitive à une température très basse à -180°C est recommandée, avec une surveillance et enregistrement de température en continue. En l'absence d'équipement de cryogénie utilisant de l'azote, ou en cas de panne de ceux-ci, la congélation et le stockage sont réalisés dans une enceinte à -80°C , pour une durée limitée inférieure à 6 mois [46-47].

3.5. Décongélation du greffon

La décongélation des greffons peut se faire soit avec lavage au niveau des laboratoires de thérapie cellulaire soit sans lavage qui peut se faire au lit du malade. La température doit être programmée entre $+38^{\circ}\text{C}$ et $+40^{\circ}\text{C}$ pour assurer la remontée rapide de la température du greffon en 2 à 5 minutes [46], ce qui préserve la viabilité et la fonctionnalité des cellules.

❖ **Décongélation avec lavage**

Le laboratoire procède au lavage en utilisant des solutions macromoléculaires (HSA ou HEA) qui doivent être ajoutées aux cellules le plus rapidement possible dès la décongélation. Un bon rendement consiste à récupérer 70 % de CD34+ initiale du greffon. Cette méthode élimine le DMSO et les débris cellulaires, mais le taux de pertes cellulaires est important à cause du lavage, ce qui exige une bonne maîtrise de la technique [47].

❖ **Décongélation sans lavage**

La décongélation peut être réalisée au niveau du laboratoire ou bien au niveau du service d'hospitalisation par un personnel formé régulièrement et disposant de procédures écrites. Elle est pratiquée après avoir validé la dose de DMSO à réinjecter de manière à éviter le risque de toxicité au patient, qui ne doit pas excéder 1 g/kg/j [48]. L'avantage est la possibilité de transfert des poches congelées vers des centres éloignés, ce qui permet d'avoir un rendement cellulaire est plus important, et la faisabilité de programmer la réinjection et de l'étaler. Toutefois, le risque de toxicité suite à l'administration du DMSO, ou sa réaction

avec d'autres médicaments reste probable.

4. Réinjection et suivi de la prise de greffe

La réinjection du greffon de CSH se fait juste après la chimiothérapie ablative du tissu hématopoïétique du receveur atteint du processus tumorale, afin d'installer des CSH saines, et permettre la prise du greffe et son expansion. Le greffon apportera alors des CSH en remplacement de celles qui ont été détruites par les traitements anti-tumoraux. La valeur de richesse minimale qui répond aux exigences de greffe des CSH est fixée selon la littérature entre $2,5 \cdot 10^6$ et $5 \cdot 10^6$ CD34+ /kg [49].

Le greffon est injecté par un cathéter veineux central comme une transfusion sanguine. Les CSH réinjectées ont la capacité de rejoindre les cavités médullaires grâce à leurs récepteurs d'adhésion aux niches hématopoïétiques, pour reconstituer le stock médullaire de CSH et assurer une hématopoïèse normale.

4.1. Reconstitution hématopoïétique des cellules immunitaires

Après l'autogreffe des CSH, les cellules sanguines se régénèrent dans des temps différents. Selon une étude multicentrique réalisée sur 46 enfants atteints du NB de haut risque, les PNN ($> 500 /\text{mm}^3$) se régénèrent en première lieu dans un délai médian de 12 jours [extrêmes 9j-47j], suivie de plaquettes (plaquettes $> 20\ 000 /\text{mm}^3$) avec autonomie transfusionnelle à 44 jours [extrêmes 12j-259j] [50]. En général, la reconstitution hématopoïétique après la greffe des CSH est marquée par l'apparition des PNN, suivie de la régénération des plaquettes dans un intervalle de 10 jours après les PNN. Les globules rouges restent en dernier. La reconstitution hématopoïétique rapide diminue la durée d'aplasie et la durée d'hospitalisation. La régénération immunitaire post-greffe est dépendante de la capacité du greffon hématopoïétique à générer les cellules de la lignée lymphoïde et myéloïde.

4.2. Suivi de la prise de greffe

Le suivi de la greffe des CSH est primordiale et passe par trois phases :

- Phase d'aplasie médullaire : est définie par un taux de PNN inférieur à $500 \text{ c}/\text{mm}^3$. Dans, l'autogreffe des CSH, cette phase ne doit pas dépasser 14 jours après la réinjection du greffon des CSH. Les soins et l'antibioprophylaxie empirique sont nécessaires pour éviter les complications infectieuses. Pour diminuer la phase d'aplasie, il est

recommandé d'utiliser le facteur de croissance G-CSF en injection sous cutanée à 0,5 ug/kg/j jusqu'à la déclaration de la sortie d'aplasie [52].

- Phase de sortie d'aplasie et prise de greffe : la sortie d'aplasie en autogreffe est définie selon les recommandations JACIE par un taux de PNN ≥ 500 c/mm³ sur trois jours successifs. La prise de greffe est définie par l'augmentation des taux des leucocytes ($>1G/L$), avec des PNN ($>0,5G/L$), des plaquettes ($>20G/L$), et par la reconstitution de l'hématopoïèse progressive [52].
- Phase post-greffe : le patient quitte l'unité de greffe sous traitement d'entretien après sortie d'aplasie. Le suivi du patient est fait de façon mensuelle à l'hôpital de jour par un examen clinique et biologique. L'évaluation de l'hémopathie maligne est indiquée à J100 (3 mois et dix jours) par l'imagerie (TDM ou Pet Scanner), et la biologie à la recherche de la maladie résiduelle. En cas de rémission complète, le suivi est pour tous les 3 mois pendant un an, puis tous les 6 mois par la suite [52].

4.3. Facteurs prédictifs d'échec d'autogreffe de CSH

- **Facteurs liées à la maladie hématologique** : le statut de la maladie présente un sur-risque de non-prise de greffe en cas de stade très avancée, ou de non réponse au traitement, soulignant la difficulté d'implantation du greffon dans un microenvironnement médullaire altéré par la chimiothérapie ou radiothérapie [53-54].
- **Facteurs liés au greffon des CSP** : la cellularité du greffon en CD34+ joue un rôle important dans la prise de greffe à court terme et la reconstitution hématopoïétique à long terme. Olsson et al. ont décrit l'effet protecteur de la richesse du greffon à partir de $2,5.10^8$ CNT/ kg et 3.10^6 cellules CD34+/kg [53-54].

III. PATIENTS ET MÉTHODES

1. Patients

Il s'agit d'une étude rétrospective étalée sur une période de 7ans entre Janvier 2016 au Mai 2022, portée sur 30 patients atteints de NB à haut risque, ayant bénéficié d'une autogreffe de CSP. La collecte des données des patients et des greffons a été faite à partir des dossiers médicaux des patients pédiatriques suivis au SHOP, et des dossiers de l'unité de thérapie cellulaire du service STSH au sein de l'hôpital d'enfant Rabat CHU IBN SINA. Les patients inclus dans notre étude ont été traités selon le protocole HR- NBL-MA 2010.

Le prélèvement de CSP est réalisé en état hématologique stable après mobilisation par G-CSF (Neupogen*) seul à dose de 10µg/kg/jour pendant 5 jours, administré par injection sous cutanée en deux prises matin et soir, et en une seule prise pour les patients à faible poids. Pour les patients en échec de mobilisation, une deuxième mobilisation est programmée par G-CSF seul.

2. Recueil des CSH, qualification et conservation du greffon

Le collecte de CSP est réalisée le 5^{ème} jour de prise G-CSF, après dosage du CD34+ du sang veineux à J4 qui doit dépasser 10 c/µl. Le recueil des CSP est réalisé par cytophérèse en utilisant le séparateur *Spectra-Optia**. L'objectif de recueil d'un greffon est fixé par notre laboratoire à une richesse minimale de 3.10^6 c/kg. Le dosage de CD34+ est réalisé au STSH selon les recommandations *ISHAGE guidelines CD34+ détermination* par cytométrie en flux en utilisant le réactif « *stem kit* » et le cymomètre en flux *Navios*.

La préparation des greffons se fait dans la salle blanche. Elle consiste en l'ajout d'une solution de cryoprotection préparée par DMSO dilué à 10%. Les greffons sont placés dans l'appareil de congélation progressive et sont conservés ensuite dans l'azote liquide à une température de -180°C jusqu'au jour prévu de la greffe. La décongélation se fait avec ou sans lavage dans un bain marie classique. La qualification des greffons est réalisée pour évaluer la viabilité et la richesse des greffons en CSH CD34+.

3. Conditionnement et prise de greffe

Le conditionnement pré-autogreffe est réalisé par *Busulfan* 37.5mg /m² 6h x16 et *Melphalan* 140 mg/m². La réinjection du greffon de CSH est faite dans les 48 heures qui suivent.

La durée d'aplasie est définie du premier jour à partir duquel les PNN sont à 0 jusqu'au jour où le taux de PNN est $\geq 0,5$ G/L, et maintenu pendant 03 jours successifs, dans les 14 jours qui suivent l'autogreffe des CSH.

Pour définir les facteurs influençant la sortie d'aplasie, nous avons divisés nos patients en deux groupes. Un groupe de patients sortants de l'aplasie avant 14 jours, et un deuxième groupe en échec de sortie d'aplasie. Nous avons comparé les deux groupes en évaluant les paramètres suivants :

- Âge au diagnostic ;
- Sexe ;
- État de la MO au diagnostic : est-elle infiltrée par la tumeur ?
- Statut de la maladie avant la greffe (RC/TBRP/RP/NR) ;
- Nombre de lignes de chimiothérapie ;
- Richesse en CD34+/kg du greffon transfusé ;
- Réponse au traitement d'induction ;
- Echec de mobilisation ;
- Richesse du greffon transfusé en cellules CD34+ ;
- Durée de prise en charge entre le diagnostic et l'autogreffe ;
- Viabilité des CSH et taux des cellules viables transfusées ;
- Durée d'aplasie ;
- Sortie d'aplasie avant ou après 14 jours.

4. Analyse statistique

L'analyse statistique des données est réalisée par le logiciel commercial SPSS pour Windows (version 13.0). Pour ceci, un test de Pearson chi² est utilisé pour comparer entre les deux groupes de patients. Dans le cas où ce test n'était pas valide, un test exact de Fisher est utilisé. Les variables considérées significatives sont ceux ayant un P value <0.05. Une

analyse univariée pour toutes les variables étudiées est réalisée. Elle est complétée par une analyse multivariée qui inclut les variables avec un p Value < 0.5.

IV. RESULTATS

1. Description épidémiologique et clinique des patients

L'Age moyen de ces patients est de 8.10 ans \pm 2.746 compris entre 4 ans et 18 ans. Le sexe ratio est de 1,7 avec une prédominance masculine à 19 patients (61.3%) contre 11 patientes (35.5%) de sexe féminin. La durée moyenne de prise en charge des patients est de 10 mois (7 ; 12). Les caractéristiques de la population étudiée sont présentées dans le tableau 1.

2. Résultats de mobilisation et caractéristiques des greffons

Tous les patients ont bénéficié du même protocole de mobilisation par le G-CSF seul. 24 patients (80%) sont bien mobilisés dès la première mobilisation et 6 patients (20%) ont présenté un échec de mobilisation ce qui a nécessité une deuxième mobilisation. Le recueil des CSP est réalisé après la dernière cure de chimiothérapie avec une durée moyenne de 30 jours (18.75 ; 63.75). La richesse en cellules CD34+ des greffons transfusés est comprise entre 2×10^6 et $12,10 \times 10^6$ cellules CD34+/kg avec une médiane de 4 cellules CD34+/kg. Une perte de cellularité < 30 % après décongélation est retrouvée dans 46.7% des cas. Le taux de viabilité des greffons transfusés est d'une médiane de 74 (70.00 ; 84.50). Les résultats relatifs à la mobilisation et aux conditions de conservation des greffons sont présentés également dans le tableau 1.

3. Description de sortie d'aplasie

En phase d'aplasie, la plupart de nos patients ont bénéficié d'un support transfusionnel : 29 patients (96.7%) avec une médiane de 45 (26.25 ; 58.25) produits sanguins labiles transfusés. La sortie d'aplasie était inférieure à 14 jours chez 20 patients (66.7%), alors que 10 patients (33.3%) ont connu un échec de sortie d'aplasie. La durée d'aplasie est estimée dans notre population à 8 jours (6.75 ; 10.00). Tous les patients ont développé des complications précoces, dont 30% d'origine infectieuse. Les complications à long terme sont présentes dans 12 cas (40%) avec 5 cas (17 %) de rechute. La survie à un an est chez 25 patients (83.4%) (tableau 1).

Tableau 1 : Tableau descriptif de la population étudiée.

Caractéristiques	N=30
Age** (ans)	8.10 ± 2.746
Sexe *	
Femme	11 (36.7%)
Homme	19 (63.3%)
Etat de MO au Diagnostic*	
Infiltré :	18 (60.1%)
Non infiltré :	10 (33.3%)
Inconnu :	2 (6.7%)
Ligne de chimiothérapie *	
1 ^{ère} ligne :	12 (40%)
2 ^{ème} ligne :	18 (60%)
Réponse au traitement d'induction*	
Rémission complète :	29 (96.7%)
Rémission partielle :	1 (3.2%)
Réponse à la mobilisation des CSH	
Echec de mobilisation des CSH*	
- Oui (Prélevé en 2 ^{ème} mobilisation)	6 (20%)
- Non	24 (80%)
Taux de CD34 du sang veineux (c/ µl) ***	37 (25.00 ; 74.00)
Richesse du greffon cellules CD34+ transfusés	
≤ 2. 10 ⁶ c /kg*	1 (3.3%)
2-5. 10 ⁶ c /kg*	20 (66.7%)
≥ 5. 10 ⁶ c /kg*	9 (30%)
Médiane ×10 ⁶ c /kg***	4 (3.00 ; 4.50)
Mode de décongélation*	
Avec lavage	26 (86.7%)
Sans lavage	4 (13.3%)
Viabilité des CSH du greffon Après décongélation	
≥ 90% -100%*	1 (3.2%)
< 90*	25 (80.6%)
Inconnu*	4 (12.9%)
Médiane ***	74 (70.00 ; 84.50)
Taux de perte cellulaire en %	
≤ 30 *	14 (46.7%)
> 30 % *	12 (38.7%)
Inconnu *	4 (13.3%)
Médiane ***	26 (15.00 ; 48.00)
Sortie d'aplasie *	
Oui	20 (66.7%)
Non	10 (33.3%)
Durée d'aplasie (Jours) * **	8 (6.75 ; 10.00)
Complication précoce *	30 (100%)
Complication tardive *	
Oui	12 (40 %)
Non	18 (60%)

* Variable qualitative décrite en Effectif (%)

** Variable quantitative décrite en Moyenne ± Ecart-type

*** Variable quantitative décrite en Médiane (Interquartile)

4. Résultat de l'analyse univariée

Les résultats des patients regroupés selon la réussite ou l'échec de sortie d'aplasie sont représentés dans le tableau 2. Les variables étudiées n'impactent pas la sortie d'aplasie à l'exception de l'âge à la greffe et la durée d'aplasie.

L'âge à la greffe présente un facteur significatif avec un P value à 0.04. Plus l'âge est élevé, plus la prise de greffe est rapide.

La durée d'aplasie présente le 2^{ème} facteur qui impacte la réussite de la greffe, avec un P value de 0.02. Plus la durée d'aplasie est prolongée, plus la sortie d'aplasie est ralentie. Dans la population étudiée, la richesse du greffon en cellules CD34+ des greffons transfusés n'impacte pas la sortie, son P value à 0,75 est non significatif.

Tableau 2 : Résultats d'analyse univariée des facteurs influençant la sortie d'aplasie.

Variables	Patients (N=30)	Sortie d'aplasie ≤14 jrs	Sortie d'aplasie > 14 jrs	Odds-Ratio	IC « Intervalle de confiance »	P Value
Age **	30	8.85 ± 2.9	6.6 ± 1.71	0.56	0.32-0.97	0.04
Sexe *	30					0.78
Homme	17	13 (65%)	4 (40%)	1		
Femme	13	7 (35%)	6 (60%)	0.80	0.16-3.85	
Etat de MO au Diagnostic *	28					0.50
Non infiltrée	10	6 (30%)	4 (40%)	1		
Infiltrée	18	13 (65%)	5 (50%)	0.57	0.11-2.95	
Ligne de chimiothérapie *	30					0.12
1 ^{ière} ligne	12	10 (50%)	2 (20%)	1		
2 ^{ème} ligne	18	10 (50%)	8 (80%)	4	0.67-23.7	
Réponse au traitement d'induction *	30					0.80
Rémission complète	29	19 (95%)	10 (100%)	1		
Rémission partielle	1	1 (5%)	0	0.004	0.00-3.30	
Echec de mobilisation *	30					0.34
Non	6	5(25%)	1(10%)	1		
Oui	24	15(75%)	9(90%)	3	0.30-29.94	
Richesse du greffon cellules CD34+ transfusés après décongélation *						0.75
≤ 2. 10 ⁶ c /kg		0	1 (10%)	1	0.00-1.51	
2-5. 10 ⁶ c /kg		13 (65%)	7 (70%)	1724	0.3-11.63	
≥ 5. 10 ⁶ c /kg		7 (35%)	2 (20%)	1.8	0.2-5.2	
Durée d'aplasie **	30	7.05 ±1.57	15.6±8.85	3.04	1.17-7.84	0,02
Mode de décongélation*	30					0.45
Sans lavage (avec DMSO)	10	2 (10%)	8 (80%)	1		
Avec lavage	20	18 (90%)	2 (20%)	0.44	0.053-3.73	
Viabilité des CSH du greffon après décongélation*	26					0.74
≥ 90% -100%	7	0	7 (70%)	1		
< 90	19	18 (90%)	1 (10 %)	0.001	0.00-6.78	
Taux de perte cellulaire en % *	26					0.55
≤ 30	14	9 (45%)	5 (50%)	1		
> 30 %	12	9 (45 %)	3 (30%)	0.60	0.10-3.29	
% de perte ***	25	35 (15 ; 48)	27 (13 ; 50,75)	0.99	0.95-1.03	0.79
Durée entre Diagnostic et Autogreffe ***	30	9 (6.25 ; 12)	10 (8.5 ; 15.25)	0.99	0.92-1.07	0.94

* Variable qualitative décrite en Effectif (%)

** Variable quantitative décrite en Moyenne ± Ecart-type

*** Variable quantitative décrite en Médiane (Interquartile)

5. Résultat de l'analyse multivariée

Les résultats de l'analyse multivariée des variables de la sortie d'aplasie n'objectivent aucun facteur impactant la sortie d'aplasie. Les résultats sont présentés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Résultats d'analyse multivariée des facteurs influençant la sortie d'aplasie.

Variables	P Value	Odds Ratio	Intervalle de confiance	
			Inférieur	Supérieur
Age (ans)	0,470	0,581	0,133	2,535
Etat de MO	0,268	0,060	0,000	8,701
Nombre de ligne de chimiothérapie	0,534	4,603	0,037	566,089
Richesse de greffon (CD34/kg)	0,557	,068	0,000	542,304
Echec de mobilisation	0,595	,113	0,000	349,471
Durée d'aplasie (Jour)	0,115	3,737	0,726	19,227

V. DISCUSSION

Le NB est la néoplasie du tissu sympathique. L'autogreffe de CSH constitue une thérapeutique incontournable dans la prise en charge du NB. Plusieurs critères conditionnent la bonne prise de greffe, et donc sa réussite. Dans la population étudiée, la répartition du sexe montre une prédominance masculine du NB avec un sexe ratio de 1,7. Ceci concorde avec les données de littérature, avec un sexe ratio de 1,6 [8]. Une analyse univariée de l'influence du sexe sur la sortie d'aplasie n'a pas montré d'impact significatif de ce facteur ($P=0.78$). On peut ainsi avancer que le sexe ne conditionne pas la sortie d'aplasie.

Nombreuses études ont démontré que la richesse du greffon en cellules CD34+ a un impact direct sur la sortie d'aplasie : plus le greffon est riche en cellules CD34+, plus la reconstitution hématopoïétique est précoce et efficace [5,53]. Toutefois, notre étude n'a pas retrouvé de rapport entre la richesse des greffons en CD34+ et la prise de greffe (P à 0.75). Par ailleurs, d'après notre analyse univariée, une richesse entre 2 et 5.10^6 CD34/kg serait un facteur de bon pronostic, favorisant la sortie précoce d'aplasie, tout comme une richesse supérieure à 5.10^6 CD34/kg. Ceci rejoint les résultats publiés par Bensinger et al., incluant 243 patients ayant bénéficié d'autogreffe de CSP, il n'existe pas de différence significative dans la prise de greffe entre les patients transfusés avec des greffons à une richesse de 2,5- 5.10^6 cellules CD34/kg, et ceux ayant reçu une dose de 5.10^6 cellules CD34/kg [5]. Ce résultat permet de fixer la valeur minimale de richesse du greffon à transfuser au patient qui ne devrait pas être inférieur à $2,5.10^6$ cellules CD34/kg.

Les patients traités par plusieurs lignes de chimiothérapie pendant une durée dépassant 24 mois, présentent des besoins en CSH plus important. Ceci est en rapport avec la difficulté d'implantation de ces cellules dans le microenvironnement médullaire altéré par la chimiothérapie [4]. Ainsi, ces patients nécessitent la transfusion de greffon riche $> 5.10^6$ cellules CD34/kg, pour pouvoir atteindre une récupération hématologique rapide [5]. Chez nos patients, la durée de leur prise en charge ne dépassait pas une médiane de 10 mois. Durant cette période, 12 (40%) ont reçu une seule ligne de chimiothérapie, et 18 (60%) ont reçu deux lignes de chimiothérapie. Sachant que la majorité de nos patients ont reçu des greffons dont la richesse est comprise entre 2 et 5.10^6 CD34/kg. Ceci a permis probablement

de répondre largement aux exigences fixées pour réussir la prise de greffe. Nos patients ont eu une sortie de l'aplasie dans une durée moyenne de 8 jrs (6.75 ;10.00).

Dans notre échantillon, tous les patients ont un âge moyen au diagnostic de 8.1 ans \pm 2.746, avec un âge minimal de 4 ans. L'analyse univariée de la pertinence de l'âge au diagnostic sur la réussite ou l'échec de sortie d'aplasie a montré son influence comme facteur favorisant la sortie d'aplasie (p à 0,04). Plus l'âge est avancé plus les patients sortent rapidement de l'aplasie. Cependant, à l'encontre de nos résultats, l'âge au diagnostic > 18 mois est décrit dans la littérature comme facteur de mauvais pronostic [1,12], car le risque de résistance à la chimiothérapie est très élevé. En effet, un âge élevé incite les cliniciens à donner plus de doses de chimiothérapie pour atteindre l'objectif thérapeutique, ce qui rend la MO délétère à réceptionner les CSH, et à les maintenir dans leur niche. Ceci contribue donc à l'échec de la prise du greffon. Nos résultats sont inconséquents, il serait donc intéressant d'élargir la taille de l'échantillon étudié pour prouver le lien entre la sortie d'aplasie précoce et l'âge avancé chez les NB à haut risque.

Le deuxième facteur retrouvé ayant un retentissement significatif est la durée d'aplasie (P à 0.02). Celle-ci débute à partir du jour où le taux des PNN est à 0/mm³, au jour où les PNN dépassent 500/mm³. Chez nos patients, la phase de neutropénie est marquée par des infections dans 30% des cas. Une analyse plus approfondie a prouvé un lien entre les événements infectieux et la non-prise de greffe [5,54]. L'impact des infections sur le prolongement de la durée d'aplasie est controversé. En effet, pour certaines équipes, la neutropénie est rapportée comme complication qui retarde la prise de greffe. Tandis que d'autres études incluent la survenue d'infections dans l'évolution préjudiciable de la neutropénie, et les considèrent comme phénomène « habituel » [54]. Le nombre de cellules CD34+ peut améliorer la survenue des infections dans la phase de granulopoïèse, avec diminution significative de la phase de neutropénie et de thrombopénie pour les greffons dont la richesse est > 5.10⁶/kg [55]. Selon une étude de Weaver et al. réalisé sur 692 patients, le temps de récupération des neutrophiles et des plaquettes en post-greffe, est comparable pour les greffons dont la richesse est de 5.10⁶ CD34/kg, comme pour ceux ayant une richesse à 7,5. 10⁶ CD34/kg [5,56]. Ceci permet de conclure à un seuil de richesse optimale des

greffons de CSH à 5.10^6 CD34/kg. Néanmoins, dans une autre étude de Ben Salah et al., l'analyse univariée de transfusion des greffons à quantité de cellules CD34+ < $7,5 \cdot 10^6$ /kg sur 48 patients présentait un facteur prédictif de survenue d'infections en dehors de la période de neutropénie post-greffe ($p = 0,041$) [57].

Notre étude a objectivé la présence d'autres complications à long terme à savoir la rechute du NB chez 5 patients à un taux de 17%. Ceci est en accord avec le taux de récurrence en post-greffe des CSH décrit dans la littérature qui est à 18%. A noter que la rechute du NB est une complication de la maladie et non pas de l'autogreffe des CSP. Dans notre échantillon, le taux de survie à un an est à 83,4% (26 patients) qui dépasse les données de la littérature (42,7 %) [57].

VI. CONCLUSION

L'autogreffe des cellules souches hématopoïétiques périphériques (CSP) présente un traitement de sauvetage chez les patients atteints du NB à haut risque. La réussite de la greffe des CSH conditionne le pronostic vital de ces patients. Plusieurs facteurs sont décrits ayant un impact sur la sortie d'aplasie. Notre analyse des variables impliquées dans la prise de greffe a objectivé deux facteurs : l'âge avancé et la durée d'aplasie prolongée. Nos résultats restent préliminaires et nécessitent d'être complétés par des études incluant un échantillon plus large, avec 10 patients pour chaque variable considérée afin qu'on puisse confirmer nos résultats initiaux.

VII. REFERENCES

1. Valeria Smith; Jennifer Foster. High-Risk Neuroblastoma Treatment Review. *Children*. 2018; 5(9):114.
2. Matthay K.K et al. Long-Term Results for Children with High-Risk Neuroblastoma Treated on a Randomized Trial of Myeloablative Therapy Followed by 13-Cis-Retinoic Acid: A Children's Oncology Group Study. *J. Clin. Oncol*. 2009; 27:1007–1013.
3. Park, J.R et al. Effect of Tandem Autologous Stem Cell Transplant vs Single Transplant on Event-Free Survival in Patients With High-Risk Neuroblastoma: A Randomized Clinical Trial. 2019;322(8):746-755.
4. Olsson RF, Logan BR, Chaudhury S, Zhu X, Akpek G, Bolwell BJ, et al. Primary graft failure after myeloablative allogeneic hema- topoietic cell transplantation for hematologic malignancies. *Leukemia* 2015;29:1754–62.
5. Elizabeth J. Shpall, Richard Champlin, John A. Glaspy. Effect of CD34 peripheral blood progenitor cell dose on hematopoietic recovery. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 1998; 4:84-92.
6. Kieuhoa T.Vo et al. Différences cliniques, biologiques et pronostiques sur la base du site de la tumeur primaire dans le neuroblastome : un rapport du projet du Groupe international sur le risque de neuroblastome. *J Clin Oncol*. 2014; 32(28): 3169–3176.
7. Brodeur, G.; Hogarty, M.; Bagatell, R.; Mosse, Y.; Maris,J. Neuroblastoma In Principles and Practice of Pediatric Oncology, 7th ed.; Pizzo, P., Poplack, D., Eds.; Wolters Kluwer: Philadelphia, PA, USA, 2016; 4(9):772–798.
8. Lacour B, Guyot-Goubin A, Guissou S, Bellec S, Désandes E, Clavel J. Incidence of childhood cancer in France: National Children Cancer Registries, 2000-2004. *Eur J Cancer Prev*. 2010; 19(3) :173–81.
9. Quinn, J.J.; Altman, A.J.; Frantz, C.N. Serum lactic dehydrogenase, an indicator of tumor activity in neuroblastoma. *J. Pediatr*. 1980; 97: 89–91

10. Hann H.-W et al. Prognostic importance of serum ferritin in patients with stages III and IV neuroblastoma: the childrens cancer study group experience. *Cancer Res.* 1985; 45: 2843-2848
11. Brodeur G.M., Seeger R.C., Schwab M., Varmus H.E., BiCHOPJ.M. Amplification of N-myc in untreated human neuroblastomas correlates with advanced disease stage. *Science.* 1984; 224:1121–1124.
12. G.Bleeker et al 123I-MIBG scintigraphy and 18F-FDG-PET imaging for diagnosing neuroblastoma. *Revue de la base de données Cochrane des revues systématiques* 2015; 9 : CD009263.
13. Elizabeth Sokol; Ami V. Desai. The Evolution of Risk Classification for Neuroblastoma. *Children.*2019;6(2):27.
14. S.Boguar ; O.Atouf; S.Ouadghiri; A.Drissi Bourhanbour ; C.Brick; M.Esskali . Collection, cryopreservation and thawing of stem cells for children weighing less than 25 Kg with high-riskneuroblastoma: A single center results in Morocco. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy.* 2022; 1-7.
15. F. Peinemann, E. C. van Dalen, F. Berthold. Retinoic Acid for High-risk Neuroblastoma Patients after Autologous Stem Cell Transplantation – Cochrane Review. *Klin Padiatr.* 2016; 228(03) : 124-129.
16. Amaria. Boumediene, Mohamed Amine Moueden. Prise en charge des enfants atteints de neuroblastome au niveau du centre émir abdelkader d’oran. *Journal Marocain des Sciences Médicales* 2017; 21- 4.
17. Maëlle Mauzon. Les cellules souches hématopoïétiques : définition, origines et principales utilisations thérapeutiques. *UNIVERSITE HENRI POINCARE – NANCY.* 2011.p121.
18. Nicole Le Douarin. Régénération, cellules souches et médecine régénérative. *Science et démocratie.* 2014 ; 131-150.
19. R Schofield The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell *Blood Cells,* 1978;4(1-2):7-25.
20. B.Quesne. Niches hématopoïétiques et cellules souches. *EMC Hématologie.* 2012; 7(4).

21. Bianco P, Costantini M, Dearden LC, Bonucci E. Alkaline phosphatase positive precursors of adipocytes in the human bone marrow. *Br J Haematol* 1988; 68:4013.
22. Suárez-Álvarez, B., López-Vázquez, A., López-Larrea, C. Mobilization and homing of hematopoietic stem cells. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2012;741, 152–170.
23. Hao QL, Thiemann FT, Petersen D, et al. Extended long-term culture reveals a highly quiescent and primitive human hematopoietic progenitor population. *Blood*. 1996; 88:3306-3313.
24. Crooks GM, Hao QL, Petersen D, et al. IL-3 increases production of B lymphoid progenitors from human CD34+CD38- cells. *J Immunol.* 2000; 165:2382-2389
25. Sean J. Morrison , Judith Kimble. Divisions asymétriques et symétriques des cellules souches dans le développement et le cancer. *La nature*. 2006; 441:1068-74.
26. Christopherson K 2nd, Hromas R. Chemokine regulation of normal and pathologic immune responses. *Stem Cells*. 2001; 19:388396.
27. Gimble JM, Robinson CE, Wu X, et al. The function of adipocytes in the bone marrow stroma: an update. *Bone*. 1996; 19: 421-428.
28. Taichman RS, Reilly MJ, Emerson SG. The hematopoietic microenvironment: osteoblasts and the hematopoietic microenvironment. *Hematology*. 2000; 4:421-426.
29. Bijou, F., Ivanovic, Z., Boiron, J.-M., Nicolini, F. Mobilisation des cellules souches hématopoïétiques : état de l'art en 2011 et perspectives. *Transfus. Clin. Biol.* 2011 ;18:503–515.
30. Kawahara, R., Shiozawa, Y., 2015. Hematopoiesis. *Human Embryology and Developmental Biology: Elsevier*; 2014. p 92-116
31. Sutherland DR, Anderson L, Keeney M, Nayar R, Chin-Yee I, et al. The ISHAGE guide- lines for CD34 + cell determination by flow cytometry. *International Society of Hema- totherapy and Graft Engineering. J Hemat- other* 1996;5(3):213–26.
32. Anne Brignier et al. Modalités de mobilisation des cellules souches hématopoïétiques autologues et objectifs cellulaires en cellules CD34 + : recommandations de la Société francophone de greffe de moelle et de thérapie cellulaire (SFGM-TC). *Bull Cancer*. 2019.

33. Kessinger, A., Sharp, J.G. The whys and hows of hematopoietic progenitor and stem cell mobilization. *Bone Marrow Transplant.* 2003; 31:319-329.
34. Levesque J, Hendy J, Takamatsu Y, Simmons P, Bendall L. Disruption of the CXCR4/CXCL12 chemotactic interaction during hematopoietic stem cell mobilization induced by G-CSF or cyclophosphamide. *J Clin Invest* 2003; 111:187–96
35. Levesque J, Takamatsu Y, Nilsson S, Haylock D, Simmons P. Vascular cell adhesion molecule-1 (CD106) is cleaved by neutrophil proteases in the bonemarrow following hematopoietic progenitor cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 2001; 98:1289–97.
36. Yanai N, Matsui N, Furusawa T, Okubo T, Obinata M. Sphingosine-1-phosphate and lysophosphatidic acid trigger invasion of primitive hematopoietic cells into stromal cell layers. *Blood* 2000; 96:139–44.
37. L.J. Bendall, K.F. Bradstock. G-CSF: From granulopoietic stimulant to bone marrow stem cell mobilizing agent. *Cytokine & Growth Facto.* 2014; 25: 355–367.
38. Duong HK, Savani BN, Copelan E, Devine S, Costa LJ, et al. Peripheral blood progenitor cell mobilization for autologous and allogeneic hematopoietic cell transplantation: guidelines from the American Society for Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014;20(9):1262–73.
39. Chambon, F., Merlin, E., Rochette, E., Pereira, B., Halle, P., Deméocq, F., & Kanold, J. Mobilization of hematopoietic stem cells by plerixafor alone in children: A sequential Bayesian trial. *Transfusion and Apheresis Science.* 2013; 49(3), 453–458.
40. Anne Brignier et al. Modalités de mobilisation des cellules souches hématopoïétiques autologues et objectifs cellulaires en cellules CD34 + : recommandations de la Société francophone de greffe de moëlle et de thérapie cellulaire (SFGM-TC). *Bull Cancer.* 2019.
41. Lissandre, S., Tanguy-Schmidt, A., Moles, M.-P., Ifrah, N. Place de, l'autogreffe de cellules souches hÉmatopoïÉtiques dans le traitement des hÉmopathies de l'adulte. *Rev. Francoph. Lab.* 2007 ; 37–44.

42. Hornberger, K., Yu, G., McKenna, D., Hubel, A. Cryopreservation of Hematopoietic Stem Cells: Emerging Assays, Cryoprotectant Agents, and Technology to Improve Outcomes. *Transfus. Med. Hemotherapy Off. Organ Dtsch. Ges. Transfusionsmedizin Immunhamatologie*. 2019; 46: 188–196.
43. John Ryan, Ph.D. Guide général de cryoconservation de cultures de cellules animales Bulletin technique. Corning Incorporated Life Sciences Lowell, MA 01851, USA https://www.labcluster.com/images/cryoconservation_corning.pdf.
44. Gao, D., Critser, J.K. Mechanisms of Cryoinjury in Living Cells. *ILAR J*. 2000; 41:187–196.
45. Whaley, D., Damyar, K., Witek, R.P., Mendoza, A., Alexander, M., Lakey, J.R., 2021. Cryopreservation: An Overview of Principles and Cell-Specific Considerations. *Cell Transplant*. 2021; 30:96368972199961.
46. Akkök CA, Liseth K, Melve GK, Ersvaer E, Hervig T, Bruserud. Is there a scientific basis for a recommended standardization of collection and cryopreservation of peripheral blood stem cell grafts? *Cytotherapy* 2011;13 (8):1013–24.
47. Practical handbook of cell therapy cryopreservation. AABB Press; 2015.
48. Lemarie C. Clinical experience with the delivery of thawed and washed autologous blood cell, with an automated closed fluid management device: cytomate. *Transfusion* ; 45(5):737-42.
49. Cluzeau T, Lambert J, Raus N, Dessaux K, Absi L, Delbos F, et al. Risk factors and outcome of graft failure after HLA matched and mismatched unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation: a study on behalf of SFGM-TC and SFHI. *Bone Marrow Transplant* 2016;51(5):687–91.
50. A. Marabelle (1), E. Merlin, P. Halle (2), C. Riquet (3), J.L. Stephan (4), R. Rousseau (1), G. Leverger (5), F. Demeocq, J. Kanold (2). Recherche clinique Intérêt de la purge de greffon autologue dans le traitement des neuroblastomes à haut risque. *Archives de pédiatrie*. 2008;15(5): 1037.
51. Reconstitution du système immunitaire après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques E. Castermans, M. Hannon, P. Drion, V. Geenen , Y. Beguin , F. Baron *Rev Med Liège* 2009; 64: 1-8.

52. Mohamed Amine BEKADJA. L'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques non cryopréservées, un exemple de recherche clinique permettant une plus-value en matière de soins : expérience de l'EHU 1er novembre d'Oran. *J Fac Med Or.* 2020 ; 4(9)-2.
53. Olsson R, Remberger M, Schaffer M, Berggren DM, Svahn BM, Mattsson J, et al. Graft failure in the modern era of allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2013;48:537–43.
54. Vincent Alcazer, Régis Peffault de Latour, Florence Ader, Hélène Labussière-Wallet. Non-prise de greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques : définition et facteurs de risque identifiés. *Bull Cancer* 2019; 106: 574–583.
55. H. Ben Salah C. Coze, J.C. Gentet, C. Lautreite, N.André, J.L. Bernard. Autogreffes de cellules souches hématopoïétiques en oncologie pédiatrique ; étude des complications infectieuses survenant au cours de la première année après sortie d'aplasie. *Archives de pédiatrie.* 2005; 526–532.
56. Brodeur, G.; Hogarty, M.; Bagatell, R.; Mosse, Y.; Maris, J. Neuroblastoma. In *Principles and Practice of Pediatric Oncology*, 7th ed.; Pizzo, P., Poplack, D., Eds.; Wolters Kluwer: Philadelphia, PA, USA, 2016; pp. 772–798.
57. Weaver CH, Hazelton B, Birch R, Palmer P, Allen C, Schwartzberg L, West W: 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. *Medicine Biology, Blood.* 1995; 86:3961.

RÉSUMÉ

Autogreffe des cellules souches hématopoïétiques et neuroblastome : facteurs influençant la prise de greffe

Aitifiss kaoutar

Introduction : La greffe des cellules souches hématopoïétiques périphériques (CSP) conditionne le pronostic vital des patients atteints de neuroblastome. La prise de greffe est définie par un taux de PNN $> 500/\text{mm}^3$ sur 3 jours successifs dans les 14 jours suivant la greffe. L'objectif de notre étude est d'analyser les sorties d'aplasies de patients greffés pour identifier les facteurs influençant la prise de greffe.

Patients et Méthodes : il s'agit d'une étude rétrospective incluant 30 malades suivis au service hospitalier d'oncologie pédiatrique pour NBL, ayant bénéficiés d'une autogreffe des CSP. Les greffons transfusés aux patients sont prélevés, préparés et conservés au service de transfusion de l'hôpital d'enfants de Rabat. Nous avons comparé les patients sortant de l'aplasie avec ceux en échec de sortie d'aplasie selon une analyse univariée avec les variables suivantes : âge, sexe, poids, état de moelle osseuse, statut de la maladie, lignes de chimiothérapie, richesse du greffon transfusé en CD34+/kg, viabilité des CSH et la durée d'aplasie.

Résultats : Nos résultats montrent que la richesse du greffon transfusé $\geq 2.10^6$ CD34/kg est une variable non significative ($P= 0.75$). Cependant, l'âge au diagnostic et la durée d'aplasie représentent des facteurs statistiquement significatifs ($P= 0.04$; $P= 0.02$).

Conclusion : Dans notre étude, l'analyse des variables impliquées dans la prise de greffe a révélé que l'âge avancé et la durée d'aplasie prolongée sont des facteurs qui peuvent influencer la prise de greffe. Nos résultats restent préliminaires et nécessitent d'être complétés par des études incluant un échantillon plus large.

Mots clés : Autogreffe des CSH, facteurs influençant, neuroblastome, richesse de greffons, prise de greffe.

SUMMARY

Hematopoietic stem cell autograft and neuroblastoma: factors influencing engraftment

Aitifiss kaoutar

Introduction: Peripheral haematopoietic stem cell (PSC) engraftment is life-saving for patients with high-risk neuroblastoma (NBL-HR). Graft uptake is defined as an NPC count $> 500/\text{mm}^3$ on 3 successive days within 14 days of transplantation. The aim of our study is to analyse aplastic discharges of transplanted patients to identify factors influencing engraftment.

Patients and Methods: This is a retrospective study including 30 patients followed at the pediatric oncology hospital for NBL-HR, who benefited from an autograft of PSC. The grafts transfused to the patients were collected, prepared and stored at the cell therapy unit of the transfusion service of the children's hospital in Rabat. We compared the patients who were discharged from aplasia with those who failed to be discharged from aplasia according to a univariate analysis with the following variables: age at diagnosis, sex, weight, bone marrow status, disease status, chemotherapy lines, CD34+/kg richness of the transfused graft, HSC viability, viable cell rate and duration of aplasia.

Results: Our results show that the richness of the transfused graft $\geq 2.10^6$ CD34/kg is a non-significant variable ($P= 0.75$). However, age at diagnosis and duration of aplasia were statically significant factors ($P= 0.04$; $P= 0.02$).

Conclusion: In our study, the analysis of variables involved in graft uptake revealed that advanced age and prolonged duration of aplasia are factors that may influence graft uptake. Our results remain preliminary and need to be complemented by studies including a larger sample.

Key words: HSC autotransplantation, influencing factors, neuroblastoma, graft richness, graft uptake.

زرع الخلايا الجذعية والورم الأرومي العصبي: العوامل التي تؤثر على التطعيم

كوثر ايت أفييس

مقدمة: زرع الخلايا الجذعية المكونة للدم ينقذ حياة مرضى الورم العصبي. يتم تعريف نجاح زرع الخلايا الجذعية بعدد متعدد النوى < 500 / مم 3 في 3 أيام متتالية في غضون 14 يومًا من الزرع. الهدف من دراستنا هو تحليل نتائج عدم التنسج في المرضى الذين تم زرعهم من أجل تحديد العوامل التي تؤثر على الزرع. **مرضى وطرق:** هذه دراسة بأثر رجعي على 30 مريضًا تم متابعتهم في قسم أورام الأطفال، بعد أن استفادوا من زرع الخلايا الجذعية. يتم جمع الخلايا التي يتم نقلها للمرضى وتحضيرها وتخزينها في خدمة نقل الدم في مستشفى الأطفال بالرباط. قمنا بمقارنة المرضى الذين تعافوا من عدم التنسج مع أولئك الذين فشلوا في التعافي باستخدام التحليل أحادي المتغير مع المتغيرات التالية: العمر والجنس والوزن وحالة نخاع العظم وحالة المرض وخطوط العلاج الكيميائي وكمية الخلايا المزروعة / كجم، قابلية بقاء الخلايا ومدة عدم التنسج.

النتائج: أظهرت نتائجنا أن كمية الخلايا المزروعة / كجم $2.106 \leq$ كان متغيرًا غير مهم ($P = 0.75$) ومع

ذلك، فإن العمر عند التشخيص ومدة عدم التنسج هي عوامل ذات دلالة إحصائية ($P = 0.04$)؛ ($P = 0.02$)

الخاتمة: في دراستنا، كشف تحليل المتغيرات المشاركة في زرع الخلايا الجذعية أن العمر المتقدم وطول مدة عدم التنسج من العوامل التي يمكن أن تؤثر على نجاح زرع الخلايا الجذعية تظل نتائجنا أولية ويجب استكمالها بدراسات على عينة أكبر.

الكلمات المفتاحية: زرع الخلايا الجذعية، العوامل المؤثرة، الورم العصبي، كمية الخلايا الجذعية، نجاح الزرع.