

UNIVERSITE MOHAMMED V - RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT-

ANNEE: 2016

THESE N°: 78

**ALLOGREFFE DE CELLULES SOUCHES
HEMATOPOIETIQUES**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le :

PAR

Mlle. Nadia BERRAMOU
Née le 30 Juin 1990 à Guelmim

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES: Cellules souches hématopoïétiques – Moelle osseuse – Sang circulant –
Sang de cordon – Greffe allogénique.

JURY

Mme. S. EL HAMZAOU Professeur de Microbiologie	PRESIDENTE
Mme. M. NAZIH Professeur d'Hématologie Biologique	RAPPORTEUR
Mme. S. TELLAL Professeur de Biochimie	} JUGES
Mr. A. MASRAR Professeur d'Hématologie Biologique	
Mme. S. BENKIRANE Professeur d'Hématologie Biologique	

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا

إنك أنت العليم الحكيم

سورة البقرة: الآية: 32

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمَ



UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969	: Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974	: Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981	: Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989	: Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997	: Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003	: Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013	: Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI

ADMINISTRATION :

Doyen	: Professeur Mohamed ADNAOUI
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes	Professeur Mohammed AHALLAT
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération	Professeur Taoufiq DAKKA
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie	Professeur Jamal TAOUFIK
Secrétaire Général	: Mr. El Hassane AHALLAT

**1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS
ET
PHARMACIENS**

PROFESSEURS :

Mai et Octobre 1981

Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih	Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. TAOBANE Hamid*	Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

Pr. BENOSMAN Abdellatif	Chirurgie Thoracique
-------------------------	----------------------

Novembre 1983

Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI	Rhumatologie
-------------------------------	--------------

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz	Médecine Interne – <i>Clinique Royale</i>
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi	Anesthésie -Réanimation
Pr. SETTAF Abdellatif	pathologie Chirurgicale

Novembre et Décembre 1985

Pr. BENJELLOUN Halima	Cardiologie
Pr. BENSALIM Younes	Pathologie Chirurgicale
Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa	Neurologie

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. AJANA Ali	Radiologie
Pr. CHAHED OUZZANI Houria	Gastro-Entérologie
Pr. EL YAACOUBI Moradh	Traumatologie Orthopédie
Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah	Gastro-Entérologie
Pr. LACHKAR Hassan	Médecine Interne
Pr. YAHYAOUY Mohamed	Neurologie

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCH Mohamed Najib Chirurgie Pédiatrique
Pr. DAFIRI Rachida Radiologie
Pr. HERMAS Mohamed Traumatologie Orthopédie

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed Médecine Interne – **Doyen de la FMPR**
Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali* Cardiologie
Pr. CHAD Bouziane Pathologie Chirurgicale
Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda Neurologie

Janvier et Novembre 1990

Pr. CHKOFF Rachid Pathologie Chirurgicale
Pr. HACHIM Mohammed* Médecine-Interne
Pr. KHARBACH Aïcha Gynécologie -Obstétrique
Pr. MANSOURI Fatima Anatomie-Pathologique
Pr. TAZI Saoud Anas Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia Anatomie-Pathologique
Pr. AZZOUZI Abderrahim Anesthésie Réanimation – **Doyen de la FMPO**
Pr. BAYAHIA Rabéa Néphrologie
Pr. BELKOUCHI Abdelkader Chirurgie Générale
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif Chirurgie Générale
Pr. BENSOUA Yahia Pharmacie galénique
Pr. BERRAHO Amina Ophtalmologie
Pr. BEZZAD Rachid Gynécologie Obstétrique
Pr. CHABRAOUI Layachi Biochimie et Chimie
Pr. CHERRAH Yahia Pharmacologie
Pr. CHOKAIRI Omar Histologie Embryologie
Pr. KHATTAB Mohamed Pédiatrie
Pr. SOULAYMANI Rachida Pharmacologie – **Dir. du Centre National PV**
Pr. TAOUFIK Jamal Chimie thérapeutique

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed Chirurgie Générale
Pr. BENSOUA Adil Anesthésie Réanimation
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib Radiologie
Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza Gastro-Entérologie
Pr. CHRAIBI Chafiq Gynécologie Obstétrique
Pr. DAOUDI Rajae Ophtalmologie
Pr. DEHAYNI Mohamed* Gynécologie Obstétrique
Pr. EL OUAHABI Abdessamad Neurochirurgie
Pr. FELLAT Rokaya Cardiologie
Pr. GHAFIR Driss* Médecine Interne
Pr. JIDDANE Mohamed Anatomie
Pr. TAGHY Ahmed Chirurgie Générale
Pr. ZOUHDI Mimoun Microbiologie

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Nouredine Radiothérapie
Pr. BEN RAIS Nozha Biophysique
Pr. CAOUI Malika Biophysique
Pr. CHRAIBI Abdelmjid Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Pr. EL AMRANI Sabah Gynécologie Obstétrique
Pr. EL AOUAD Rajae Immunologie
Pr. EL BARDOUNI Ahmed Traumato-Orthopédie

Pr. EL HASSANI My Rachid
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. HADRI Larbi*
Pr. HASSAM Badredine
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. JELTHI Ahmed
Pr. MAHFOUD Mustapha
Pr. MOUDENE Ahmed*
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. ABDELHAK M'barek
Pr. BELAIDI Halima
Pr. BRAHMI Rida Slimane
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHAMI Ilham
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. EL ABBADI Najia
Pr. HANINE Ahmed*
Pr. JALIL Abdelouahed
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. CHAARI Jilali*
Pr. DIMOU M'barek*
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*
Pr. EL MESNAOUI Abbes
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. HDA Abdelhamid*
Pr. IBEN ATTYA ANDALOSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Décembre 1996

Pr. AMIL Touriya*
Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOVAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. MAHFOUDI M'barek*
Pr. MOHAMMADI Mohamed
Pr. OUADGHIRI Mohamed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Novembre 1997

Radiologie
Chirurgie Générale- **Directeur CHIS**
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Traumatologie- Orthopédie **Inspecteur du SS**
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie

Urologie
Chirurgie – Pédiatrique
Neurologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Gynécologie – Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Neurochirurgie
Radiologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation – **Dir. HMIM**
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Cardiologie - **Directeur ERSM**
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Radiologie
Médecine Interne
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. CHAOUIR Souad*
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. HAIMEUR Charki*
Pr. KADDOURI Noureddine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. OUAHABI Hamid*
Pr. TAOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA
Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. EZZAITOUNI Fatima
Pr. LAZRAK Khalid *
Pr. BENKIRANE Majid*
Pr. KHATOURI ALI*
Pr. LABRAIMI Ahmed*

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. ISMAILI Hassane*
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AIT OURHROUI Mohamed
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. HSSAIDA Rachid*
Pr. LAHLOU Abdou
Pr. MAFTAH Mohamed*
Pr. MAHASSINI Najat
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae

Gynécologie-Obstétrique
Urologie
Neurologie
Radiologie
Pédiatrie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Neurologie
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Gastro-Entérologie
Neurologie – **Doyen Abulcassis**
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Néphrologie
Traumatologie Orthopédie
Hématologie
Cardiologie
Anatomie Pathologique

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Traumatologie Orthopédie
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Neurologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anesthésie-Réanimation
Traumatologie Orthopédie
Neurochirurgie
Anatomie Pathologique

Pédiatrie

Pr. NASSIH Mohamed*
Pr. ROUIMI Abdelhadi*

Décembre 2000

Pr. ZOHAIR ABDELAH*

Décembre 2001

Pr. ABABOU Adil
Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOUCHEANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. DAALI Mustapha*
Pr. DRISSI Sidi Mourad*
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABBAJ Saad
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MAHASSIN Fattouma*
Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MIKDAME Mohammed*
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBAAH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
Neurologie

ORL

Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Neuro-Chirurgie
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Médecine Interne
Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Urologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
Pr. AMEUR Ahmed *
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*
Pr. BAMOU Youssef *
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila
Pr. BENZZOUBEIR Nadia
Pr. BERNOUSSI Zakiya
Pr. BICHTA Mohamed Zakariya*
Pr. CHOHO Abdelkrim *
Pr. CHKIRATE Bouchra

Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Psychiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie

Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
Pr. EL HAOURI Mohamed *
Pr. EL MANSARI Omar*
Pr. FILALI ADIB Abdelhai
Pr. HAJJI Zakia
Pr. IKEN Ali
Pr. JAAFAR Abdelouhab*
Pr. KRIOUILE Yamina
Pr. LAGHMARI Mina
Pr. MABROUK Hfid*
Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
Pr. NAITLHO Abdelhamid*
Pr. OUJILAL Abdelilah
Pr. RACHID Khalid *
Pr. RAISS Mohamed
Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
Pr. RHOU Hakima
Pr. SIAH Samir *
Pr. THIMOU Amal
Pr. ZENTAR Aziz*

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
Pr. AMRANI Mariam
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
Pr. BENKIRANE Ahmed*
Pr. BOUGHALEM Mohamed*
Pr. BOULAADAS Malik
Pr. BOURAZZA Ahmed*
Pr. CHAGAR Belkacem*
Pr. CHERRADI Nadia
Pr. EL FENNI Jamal*
Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOUIRIK Fatima
Pr. KHABOUZE Samira
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. LEZREK Mohammed*
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
Pr. ALLALI Fadoua

Chirurgie Pédiatrique
Dermatologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Traumatologie Orthopédie
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Médecine Interne
Oto-Rhino-Laryngologie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Générale
Pneumophtisiologie
Néphrologie
Anesthésie Réanimation
Pédiatrie
Chirurgie Générale

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Neurologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Cardiologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Gynécologie Obstétrique
Traumatologie Orthopédie
Urologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Rhumatologie

Pr. AMAZOUZI Abdellah
 Pr. AZIZ Nouredine*
 Pr. BAHIRI Rachid
 Pr. BARKAT Amina
 Pr. BENHALIMA Hanane
 Pr. BENYASS Aatif
 Pr. BERNOUSSI Abdelghani
 Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed
 Pr. DOUDOUH Abderrahim*
 Pr. EL HAMZAOUI Sakina*
 Pr. HAJJI Leila
 Pr. HESSISSEN Leila
 Pr. JIDAL Mohamed*
 Pr. LAAROUSSI Mohamed
 Pr. LYAGOUBI Mohammed
 Pr. NIAMANE Radouane*
 Pr. RAGALA Abdelhak
 Pr. SBIHI Souad
 Pr. ZERAIDI Najia

Décembre 2005

Pr. CHANI Mohamed

Avril 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
 Pr. AKJOUJ Said*
 Pr. BELMEKKI Abdelkader*
 Pr. BENCHEIKH Razika
 Pr. BIYI Abdelhamid*
 Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
 Pr. BOULAHYA Abdellatif*
 Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
 Pr. DOGHMI Nawal
 Pr. ESSAMRI Wafaa
 Pr. FELLAT Ibtissam
 Pr. FAROUDY Mamoun
 Pr. GHADOUANE Mohammed*
 Pr. HARMOUCHE Hicham
 Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
 Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
 Pr. JROUNDI Laila
 Pr. KARMOUNI Tariq
 Pr. KILI Amina
 Pr. KISRA Hassan
 Pr. KISRA Mounir
 Pr. LAATIRIS Abdelkader*
 Pr. LMIMOUNI Badreddine*
 Pr. MANSOURI Hamid*
 Pr. OUANASS Abderrazzak
 Pr. SAFI Soumaya*
 Pr. SEKKAT Fatima Zahra
 Pr. SOUALHI Mouna

Ophtalmologie
 Radiologie
 Rhumatologie
 Pédiatrie
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
 Cardiologie
 Ophtalmologie
 Ophtalmologie
 Biophysique
 Microbiologie
 Cardiologie (*mise en disponibilité*)
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Parasitologie
 Rhumatologie
 Gynécologie Obstétrique
 Histo-Embryologie Cytogénétique
 Gynécologie Obstétrique

Anesthésie Réanimation

Rhumatologie
 Radiologie
 Hématologie
 O.R.L
 Biophysique
 Chirurgie - Pédiatrique
 Chirurgie Cardio – Vasculaire
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Gastro-entérologie
 Cardiologie
 Anesthésie Réanimation
 Urologie
 Médecine Interne
 Anesthésie Réanimation
 Microbiologie
 Radiologie
 Urologie
 Pédiatrie
 Psychiatrie
 Chirurgie – Pédiatrique
 Pharmacie Galénique
 Parasitologie
 Radiothérapie
 Psychiatrie
 Endocrinologie
 Psychiatrie
 Pneumo – Phtisiologie

Pr. TELLAL Saida*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leila
Pr. ACHOUR Abdessamad*
Pr. AIT HOUSSA Mahdi*
Pr. AMHAJJI Larbi*
Pr. AMMAR Haddou*
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed*
Pr. BALOUCH Lhousaine*
Pr. BENZIANE Hamid*
Pr. BOUTIMZINE Nourdine
Pr. CHARKAOUI Naoual*
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*
Pr. ELABSI Mohamed
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GANA Rachid
Pr. GHARIB Nouredine
Pr. HADADI Khalid*
Pr. ICHOU Mohamed*
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar*
Pr. LOUZI Lhoussain*
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MAHI Mohamed*
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. MOUTAJ Redouane *
Pr. MRABET Mustapha*
Pr. MRANI Saad*
Pr. OUZZIF Ez zohra*
Pr. RABHI Monsef*
Pr. RADOUANE Bouchaib*
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine*
Pr. SIFAT Hassan*
Pr. TABERKANET Mustafa*
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour*
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Décembre 2007

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

Biochimie
Pneumo – Phtisiologie

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Chirurgie générale
Chirurgie cardio vasculaire
Traumatologie orthopédie
ORL
Parasitologie
Anesthésie réanimation
Biochimie-chimie
Pharmacie clinique
Ophtalmologie
Pharmacie galénique
Chirurgie générale
Chirurgie générale
Anesthésie réanimation
Psychiatrie
Neuro chirurgie
Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie médicale
Dermatologie
Radiothérapie
Anesthésie réanimation
Microbiologie
Réanimation médicale
Radiologie
Pneumo phtisiologie
Hématologique
Parasitologie
Médecine préventive santé publique et hygiène
Virologie
Biochimie-chimie
Médecine interne
Radiologie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Chirurgie vasculaire périphérique
Ophtalmologie
Chirurgie générale
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Cardiologie

Ophtalmologie

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*
Pr TAHIRI My El Hassan*

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*
Pr. AGDR Aomar*
Pr. AIT ALI Abdelmounaim*
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia
Pr. AKHADDAR Ali*
Pr. ALLALI Nazik
Pr. AMAHZOUNE Brahim*
Pr. AMINE Bouchra
Pr. ARKHA Yassir
Pr. AZENDOUR Hicham*
Pr. BELYAMANI Lahcen*
Pr. BJIJOU Younes
Pr. BOUHSAIN Sanae*
Pr. BOUI Mohammed*
Pr. BOUNAIM Ahmed*
Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
Pr. CHAKOUR Mohammed *
Pr. CHTATA Hassan Toufik*
Pr. DOGHMI Kamal*
Pr. EL MALKI Hadj Omar
Pr. EL OUENNASS Mostapha*
Pr. ENNIBI Khalid*
Pr. FATHI Khalid
Pr. HASSIKOU Hasna *
Pr. KABBAJ Nawal
Pr. KABIRI Meryem
Pr. KARBOUBI Lamya
Pr. L'KASSIMI Hachemi*
Pr. LAMSAOURI Jamal*
Pr. MARMADE Lahcen
Pr. MESKINI Toufik
Pr. MESSAOUDI Nezha *
Pr. MSSROURI Rahal
Pr. NASSAR Ittimade
Pr. OUKERRAJ Latifa
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *
Pr. ZOUHAIR Said*

PROFESSEURS AGREGES :

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
Pr. AMEZIANE Taoufiq*
Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. BOUAITY Brahim*
Pr. CHADLI Mariama*
Pr. CHEMSI Mohamed*
Pr. DAMI Abdellah*

Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale

Médecine interne
Pédiatre
Chirurgie Générale
Neurologie
Neuro-chirurgie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Rhumatologie
Neuro-chirurgie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Anatomie
Biochimie-chimie
Dermatologie
Chirurgie Générale
Traumatologie orthopédique
Hématologie biologique
Chirurgie vasculaire périphérique
Hématologie clinique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Médecine interne
Gynécologie obstétrique
Rhumatologie
Gastro-entérologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Microbiologie
Chimie Thérapeutique
Chirurgie Cardio-vasculaire
Pédiatrie
Hématologie biologique
Chirurgie Générale
Radiologie
Cardiologie
Pneumo-phtisiologie
Microbiologie

Anesthésie réanimation
Médecine interne
Physiologie
ORL
Microbiologie
Médecine aéronautique
Biochimie chimie

Pr. DARBI Abdellatif*
Pr. DENDANE Mohammed Anouar
Pr. EL HAFIDI Naima
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
Pr. EL MAZOUZ Samir
Pr. EL SAYEGH Hachem
Pr. ERRABIH Ikram
Pr. LAMALMI Najat
Pr. LEZREK Mounir
Pr. MALIH Mohamed*
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. NAZIH Mouna*
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
Pr. ABOUELALAA Khalil*
Pr. BELAIZI Mohamed*
Pr. BENCHEBBA Driss*
Pr. DRISSI Mohamed*
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
Pr. EL KHATTABI Abdessadek*
Pr. EL OUAZZANI Hanane*
Pr. ER-RAJI Mounir
Pr. JAHID Ahmed
Pr. MEHSSANI Jamal*
Pr. RAISSOUNI Maha*

Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina
Pr. AMRANI HANCHI Laila
Pr. AMOUR Mourad
Pr. AWAB Almahdi
Pr. BELAYACHI Jihane
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
Pr. BENCHEKROUN Laila
Pr. BENKIRANE Souad
Pr. BENNANA Ahmed*
Pr. BENSEFFAJ Nadia
Pr. BENSghir Mustapha*
Pr. BENYAHIA Mohammed*
Pr. BOUATIA Mustapha
Pr. BOUABID Ahmed Salim*
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba
Pr. CHAIB Ali*
Pr. DENDANE Tarek
Pr. DINI Nouzha*
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa

Radiologie
Chirurgie pédiatrique
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie plastique et réparatrice
Urologie
Gastro entérologie
Anatomie pathologique
Ophtalmologie
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie générale
Hématologie
Anatomie pathologique

Chirurgie Pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Psychiatrie
Traumatologie Orthopédique
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Médecine Interne
Pneumophtisiologie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie pathologique
Psychiatrie
Cardiologie

Pharmacologie – Chimie
Toxicologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Réanimation Médicale
Anesthésie Réanimation
Biochimie-Chimie
Hématologie
Informatique Pharmaceutique
Immunologie
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chimie Analytique
Traumatologie Orthopédie
Anatomie
Cardiologie
Réanimation Médicale
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Radiologie

Pr. ELFATEMI Nizare	Neuro-Chirurgie
Pr. EL GUERROUJ Hasnae	Médecine Nucléaire
Pr. EL HARTI Jaouad	Chimie Thérapeutique
Pr. EL JOUDI Rachid*	Toxicologie
Pr. EL KABABRI Maria	Pédiatrie
Pr. EL KHANNOUSSI Basma	Anatomie Pathologie
Pr. EL KHLOUFI Samir	Anatomie
Pr. EL KORAICHI Alae	Anesthésie Réanimation
Pr. EN-NOUALI Hassane*	Radiologie
Pr. ERRGUIG Laila	Physiologie
Pr. FIKRI Meryim	Radiologie
Pr. GHANIMI Zineb	Pédiatrie
Pr. GHFIR Imade	Médecine Nucléaire
Pr. IMANE Zineb	Pédiatrie
Pr. IRAQI Hind	Endocrinologie et maladies métaboliques
Pr. KABBAJ Hakima	Microbiologie
Pr. KADIRI Mohamed*	Psychiatrie
Pr. LATIB Rachida	Radiologie
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra	Médecine Interne
Pr. MEDDAH Bouchra	Pharmacologie
Pr. MELHAOUI Adyl	Neuro-chirurgie
Pr. MRABTI Hind	Oncologie Médicale
Pr. NEJJARI Rachid	Pharmacognosie
Pr. OUBEJJA Houda	Chirurgie Pédiatrique
Pr. OUKABLI Mohamed*	Anatomie Pathologique
Pr. RAHALI Younes	Pharmacie Galénique
Pr. RATBI Ilham	Génétique
Pr. RAHMANI Mounia	Neurologie
Pr. REDA Karim*	Ophthalmologie
Pr. REGRAGUI Wafa	Neurologie
Pr. RKAIN Hanan	Physiologie
Pr. ROSTOM Samira	Rhumatologie
Pr. ROUAS Lamiaa	Anatomie Pathologique
Pr. ROUIBAA Fedoua*	Gastro-Entérologie
Pr. SALIHOUN Mouna	Gastro-Entérologie
Pr. SAYAH Rochde	Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. SEDDIK Hassan*	Gastro-Entérologie
Pr. ZERHOUNI Hicham	Chirurgie Pédiatrique
Pr. ZINE Ali*	Traumatologie Orthopédie

Avril 2013

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim*	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Pr. GHOUNDALE Omar*	Urologie
Pr. ZYANI Mohammad*	Médecine Interne

***Enseignants Militaires**

2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS / PRs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie – chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
Pr. BARKYOU Malika	Histologie-Embryologie
Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia	Biochimie – chimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootechnie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbes	Pharmacologie
Pr. HAMZAOUI Laila	Biophysique
Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

*Mise à jour le 09/01/2015 par le
Service des Ressources Humaines*

- 9 JAN 2015



Dédicaces





À ceux qui ont toujours cru en moi
À ceux qui m'ont toujours encouragé
Je dédie cette thèse à





Au bon Dieu

Tout puissant

Qui m'a inspiré, Qui m'a guidé dans le bon chemin

Je vous dois ce que je suis devenue

Louanges et remerciements

Pour votre clémence et miséricorde





À mes très chers parents, AIT OUL AID LATIFA,

BERRAMOU L'HOUCINE,

*En hommage à tous les sacrifices que vous avez consenti
pour moi durant mes longues années d'études.*

Je n'aurais jamais espéré avoir de meilleurs parents.

*e vous remercie d'avoir fait de moi ce que je suis maintenant
et de m'avoir appris de vivre dans l'honneur et dans la dignité.*

*Aucune dédicace, aucun mot, ne saurait exprimer réellement
mon profond amour, mon respect et ma vive gratitude.*

*Veillez trouver dans ce travail le fruit de toutes
vos peines et vos sacrifices*





Ma sœur Fatiha et son mari Soulaimane

Je ne pourrais jamais exprimer le respect que j'ai pour vous, ni la gratitude et ma reconnaissance envers les innombrables et immenses sacrifices que vous avez déployé pour mes études.

Vous n'avez pas cessé de me soutenir et m'encourager durant toutes les années de mes études, vous avez toujours été présents à mes cotés pour me consoler quand il fallait, jamais je ne l'oublierais.

Puisse Dieu, le tout puissant vous préserver du mal, vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.





À Mon frère Rachid, et ma sœur Imane

*Vous m'aviez toujours aidé et ces quelques lignes sont
insuffisantes pour exprimer mon profond amour
et ma reconnaissance pour les honorables services soutenus.*

Que cette thèse vous traduise ma profonde affection.

À mes nièces Arwa et Ritaj

*Je vous dédie ce travail en témoignage de ma grande
affection et amour.*

Votre joie et votre gaieté me comble de bonheur.

Puisse dieu vous garder et vous protéger





*À toute ma famille : ma grand-mère,
mes tantes, oncles, cousines et cousins*

*Je vous dédie ce travail en témoignage de mes sentiments
les plus sincères.*

*Puisse Dieu vous garder en bonne santé et vous prête une
longue vie pleine de bonheur, santé et de prospérité.*

Que dieu vous protège





À la mémoire de mes grands-parents :

Brahim, Lahssen, Rquia,

Que Dieu vous accorde sa miséricorde

À Mes chères amies : Hind ,

Merieme , Oumaima, Nadia

*Je vous dédie ce travail en témoignage
de ma grande affection*

et amour et pour tous les beaux moments qu'on a partagé.

Je vous souhaite une florissante santé, un prospère avenir

et une vie couronnée de succès



Remerciements





*À notre président de thèse,
Madame EL HAMZAOUI SAKINA
Professeur de Microbiologie à la Faculté
de la Médecine et de Pharmacie de Rabat,*

*Vous m'avez fait l'honneur d'accepter de présider
ce jury de thèse et de juger ce travail.*

*Je tiens à vous remercier pour l'enseignement dispensé au cours de
ces années et pour vos conseils avisés.*

*Nous avons profité de votre enseignement de qualité
et de votre sagesse. Que ce travail soit pour vous un témoignage
de notre profonde gratitude.*



À notre Maître et rapporteur de thèse,

Madame MONA NAZIH,

*Professeur de l'hématologie à la Faculté
de la Médecine et de Pharmacie de Rabat.*

*Merci de m'avoir fait l'honneur de diriger ce travail
et d'apporter votre contribution à ce jury.*

*Je tiens à vous remercier pour l'enseignement dispensé
au cours de ces années et pour vos conseils avisés.*

*Vous m'avez guidé en me conseillant et en consacrant
une partie de votre temps précieux, malgré les responsabilités
et les charges de vos fonctions.*

*Votre sourire, votre sympathie, votre modestie et vos qualités
professionnelles ne peuvent que susciter l'estime et le respect
de tous. Veuillez trouver ici, Madame le Professeur,*

l'assurance

de mon admiration et de mon profond respect.





*À notre Maître et Membre du Jury,
Madame SAIDA TELLA
Professeur de biochimie à la Faculté
de Médecine et Pharmacie de Rabat,*

*Rien ne pourra vous exprimer notre gratitude pour l'enseignement
que vous nous prodiguez et aussi parce
que vous avez accepté de diriger ce travail.
Veuillez trouver dans ce travail l'expression
de mon profond respect.*





À notre Maître et Membre du Jury,

À Mr AZLARAB MASRAR

*Professeur d'hématologie biologique à la Faculté
de la Médecine et de Pharmacie de Rabat*

*C'est pour moi un immense plaisir et une grande fierté de vous
compter parmi les membres du jury. Votre dynamisme et votre grande
compétence ont toujours forcé mon admiration.*

*Je vous remercie de la spontanéité et la gentillesse
avec lesquelles vous avez bien voulu accepter
de juger ce travail. Je vous en serais toujours reconnaissant.*

*Veillez trouver ici, le témoignage de ma profonde
reconnaissance et de mon grand respect.*





*À Madame BENKIRANE SOUAD
Professeur d'hématologie biologique à la Faculté
de la Médecine
et de Pharmacie de Rabat*

*Nous vous remercions vivement d'avoir accepté sans
réserve de siéger parmi le jury de notre thèse.
Votre humanisme, votre spontanéité et votre gentillesse ne sont un
secret pour personne.
Veuillez accepter, Madame, l'expression
de ma grande admiration et mes sincères respects.*



LISTE DES ABREVIATIONS

AMH	: Hormone anti-mullérienne
BMDW	: Bone marrow donors worldwide
BO	: Bronchiolite oblitérante
CFU-L	: Colony forming unit – lymphoid
CMH	: Complexe majeur d'histocompatibilité
CMV	: Cytomégalovirus
CS	: Cellules souches
CSA	: Cellules souches adultes
CSE	: Cellules souches embryonnaires
CSF:	Cellules souches fœtales
CSH	: Cellules souches hématopoïétiques
CSM	: Cellules souches mésenchymateuses
CSP	: Cellules souches périphériques
DLI	: Injections des lymphocytes du donneur
EBV	: Epstein–Barr virus
EFR	: Exploration fonctionnelle respiratoire
EPO	: Erythropoïétine
FCH	: Facteurs de croissance hématopoïétiques
G-CSF	: Granulocyte colony stimulating factor
GVH	: Greffon versus hôte

GVL: Greffon versus leucémie

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

HLA: Human leukocyte antigens mégacaryocytaire

HSC: Hematopoietic stem cell

LAM: Leucémie aigue myéloïde

LAL: Leucémie aigüe lymphoïde

LMC: Leucémie myéloïde chronique

LLC: Leucémie lymphoïde chronique

MCI: Masse cellulaire interne

MM: Myélome multiple

MNP: manifestation neuropsychiatrique

MVO: Maladie veino-occlusive

MO: Moelle osseuse

MTX: Méthotrexate

PNN: polynucléaires neutrophiles

SCF: Stem cell factor

TPO: Thrombopoïétine

USP: Unité du sang placentaire

Liste des illustrations



LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Classification en grades de la GVHa.....	80
Tableau II: Score de Glucksberg.	82
Tableau III: Ancienne classification de la GVHc.....	92
Tableau IV : classification grade de sévérité de la GVH chronique.....	92
Tableau V : Complications infectieuses post allogreffe.....	97
Tableau VI : Classification des mucites selon l’OMS.....	99
Tableau VII : L’évolution des stocks internationaux d’USP.....	110

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Auto-renouvellement et différenciation d'une cellule souche	5
Figure 2 : Schéma d'un embryon au 5e jour après la fécondation (Blastocyte)	8
Figure 3 : Cellules souches embryonnaires et fœtales/adultes des entités très différentes se succédant au cours de la vie	9
Figure 4 : Résumé des effets immunomodulateurs des CSM	19
Figure 5 : Schéma de la niche ostéoblastique	25
Figure 6 : Structure et interactions de la niche hématopoïétique de la moelle osseuse	27
Figure 7 : Hiérarchie du système hématopoïétique	29
Figure 8 : Ontogénèse du système hématopoïétique dans les modèles murins (A) et humains (B)	30
Figure 9 : Schéma illustratif simplifié de la différenciation hématopoïétique	34
Figure10 : Evolution de la répartition des sources de greffon des CSH allogéniques	40
Figure11 : Répartition des indications en 2012 des allogreffes apparentées (n=669 patients)	44
Figure12: Répartition des indications en 2012 des allogreffes non apparentées (n=856 patients)	44
Figure 13 : Evolution de la répartition des indications d'allogreffe	45
Figure 14 : Evolution de la répartition des indications d'allogreffe	45
Figure 15 : Prélèvement de sang de cordon ombilical par ponction de la veine ombilicale	58
Figure 16 : Les étapes de l'allogreffe de CSH	66
Figure 17 : Cinétique de survenue de la GVH aigüe et de la GVH chronique]	79
Figure 18 : Physiopathologie de la maladie aiguë du greffon contre l'hôte	83
Figure 19: La réaction en chaîne de la GVHa selon Blazar et coll.	89

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	1
PARTIE1: GENERALITES SUR LES CELLULES SOUCHES	3
A. DEFINITIONS :.....	4
A.1.Les cellules souches :.....	4
A.2.Classification des cellules souches :.....	5
A.2.1. Selon la capacité de différenciation :.....	5
A.2.1.1. Les cellules souches totipotentes :.....	6
A.2.1.2. Les cellules souches pluripotentes :.....	6
A.2.1.3. Les cellules souches multipotentes :.....	6
A.2.1.4. Les cellules souches unipotentes :.....	7
A.2.2. Selon la localisation physiologique et le stade de développement de l'individu :.....	7
A.2.2.1. Les cellules souches embryonnaires(CSE) :.....	7
a. Origine :.....	7
b. Propriétés des CSE :.....	8
c. Avantages et inconvénients :.....	9
d. Débats éthiques :.....	10
A.2.2.2. Les cellules souches fœtales et adultes :.....	11
a. Les cellules souches fœtales :.....	11
b. Les cellules souches adultes :.....	12
b.1 Définition :.....	12
b.2 Caractéristiques :.....	12
B. LES CELLULES SOUCHES ADULTES :.....	15
B.1.Les cellules souches mésenchymateuses :.....	15
B.1.1.Généralité :.....	15
B.1.2.Origine, sources et rôle physiologique :.....	16
B.1.3.Caractéristiques et propriétés :.....	16
B.1.3.1. Multipotence :.....	16

B.1.3.2. Marqueurs de surface :	17
B.1.3.3. Adressage des CSM vers les tissus lésés :	17
B.1.3.4. Immunomodulation :	18
B.1.3.5. Soutien de l'hématopoïèse :	20
B.2. Les cellules souches hématopoïétiques (CSH):	20
B.2.1. Généralités :	20
B.2.2. Origine des CSH :	21
B.2.3. Sources des CSH:	21
B.2.3.1. La moelle osseuse :	21
B.2.3.2. Les cellules souches périphériques :	21
B.2.3.3. Le sang de cordon ombilical :	22
B.2.4. Propriétés :	23
C. LOCALISATION, PHYSIOLOGIE, CARACTERISATION ET POTENTIALITE :	24
C.1. La niche hématopoïétique :	24
C.1.1. Définition d'une niche :	24
C.1.2. La niche des CSH :	25
C.1.2.1 La niche ostéoblastique (endostéale) :	25
C.1.2.2. La niche vasculaire :	26
C.1.2.3. Les signaux entre les CSH et la niche :	27
C.2. Hématopoïèse :	28
C.2.1. Sièges de l'hématopoïèse :	30
C.2.2. Les compartiments de l'hématopoïèse :	31
C.3 Facteurs de croissance hématopoïétique :	35
C.4. Caractérisation des CSH :	37
PARTIE2 : LES GREFFES DES CELLULES SOUCHES HEMATOPOÏËTIQUES	38
A. GREFFE ALLOGENIQUE	39
A.1 Généralités :	39
A.2. Définitions :	41
A.3. Principales indications :	43

A.4. Avantages et inconvénients des allogreffes :	46
B. LES GREFFONS DES CELLULES SOUCHES HEMATOPOÏÉTIQUES :	47
B.1. Greffons issus de la moelle osseuse ou du sang circulant :	47
B.1.1. Modalités de prélèvement :	48
B.1.1.1. Moelle osseuse :	48
B.1.1.2. Cellules souches périphériques :	49
B.1.2. Composition cellulaire du greffon, son traitement, sa conservation et influence sur les greffes hématopoïétiques :	51
B.1.3. Don des CSH de moelle osseuse et de CSP :	54
B.2. Greffons issus de sang de cordon :	55
B.2.1. Modalités de prélèvement :	56
B.2.2. Composition cellulaire du greffon et influence sur les greffes hématopoïétiques :	59
B.2.3. Don de sang de cordon :	61
B.2.3.1. Avant le prélèvement :	61
B.2.3.2. Le prélèvement :	62
C. PROTOCOLES DE L'ALLOGREFFE :	63
C.1. Choix du donneur :	63
C.1.1. Donneur familial :	65
C.1.2. Donneur issu de registre :	65
C.2. Conditionnements pré-greffe de receveur et ses effets secondaires :	66
C.3. Protocole d'administration du greffon et surveillance clinique :	72
C.3.1. Transfusion des CSH et la phase d'aplasie :	72
C.3.2. La prise de greffe et le chimérisme :	74
C.3.3. La reconstitution immunitaire :	75
D. EFFET BÉNÉFIQUE DE L'ALLOGREFFE DANS LE TRAITEMENT DES HÉMOPATHIES MALIGNES :	76
D.1. La réaction du greffon contre la leucémie (effet GvL) :	76
D.1.1. Les différents antigènes intervenant dans l'effet GvL :	77
D.1.2. Mécanismes effecteurs :	77

E. REACTIONS POST-GREFFES ET PRISE EN CHARGE :	78
E.1. Réaction du greffon contre l'hôte (GvH) :	78
E.1.1. GVH aiguë (GVHa) :	79
E.1.1.1. Description clinique et facteurs de risques :	81
E.1.1.2. Physiopathologie :	83
E.1.1.3. Prophylaxie :	89
E.1.1.4. Traitement :	90
E.1.2.1. Description clinique et facteurs de risque :	93
E.1.2.2. Physiopathologie :	93
E.1.2.3. Traitement :	94
E.3. Complications de l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques :	95
E.3.1. Complications infectieuses post allogreffe :	95
E.3.2.2. Maladie veino-occlusive du foie (MVO):	99
E.3.2.3. Pneumopathie interstitielle :	101
E.3.2.4. Rejet du greffon :	101
E.3.2.5. Complications neurologiques :	101
E.3.3. Complications à long terme de la greffe des CSH :	102
E.3.3.1. Dysfonctions d'organes :	103
E.3.3.2. Complications endocriniennes :	105
E.3.3.3. Complications malignes :	108
PARTIE 3 : BANQUES DE SANG DE CORDON ET ROLE DU PHARMACIEN D'OFFICINE.	109
A. LE CONTEXTE INTERNATIONAL DU DON DE SANG PLACENTAIRE :	110
A.1. Généralités :	110
A.1.1. Les instances internationales :	111
A.1.2. Les instances européennes :	112
B.1. Double allogreffe d'USP :	113
B.2. Expansion ex vivo des CSH :	114
C. LEGISLATION :	117

C.1. Le contexte internationale :	117
C.2. Législation Française :	118
D.ROLE DU PHARMACIEN :	119
CONCLUSION	120
RESUME	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

Introduction générale



La greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) a été introduite de façon régulière depuis les années 1960 dans l'arsenal thérapeutique hématologique dans un double optique :

- Assurer la reconstitution hématopoïétique après traitement intensif et potentiellement myéloablatif d'une maladie maligne.
- Corriger un déficit constitutionnel ou acquis du tissu hématopoïétique: aplasies médullaires, déficits immunitaires combinés sévères, certaines hémoglobinopathies

Dans le cadre de la prise en charge de ce deuxième groupe de pathologie, la question du choix du caractère autologue ou allogénique des cellules ne se pose évidemment pas puisqu'il ne peut s'agir que d'allogreffes. Par contre dans l'optique du traitement d'une maladie maligne, ce problème peut réellement être envisagé, essentiellement il est vrai aujourd'hui en onco-hématologie, tant le recours aux allogreffes dans le traitement de tumeurs solides était jusqu'à peu très exceptionnel. Ce choix va dépendre d'un certain nombre d'éléments liés au malade (âge, antécédent...), à sa maladie, voire aux hasards de la génétique qui déterminera son phénotype HLA.

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques ou greffe allogénique a beaucoup évolué depuis ses origines, multipliant les sources cellulaires utilisables qu'il s'agisse de la moelle, de cellules du sang périphérique, de cellules du sang placentaire (ou du cordon ombilical). Son succès repose sur l'immunosuppression des cellules du système immunitaire du receveur par le conditionnement et sur la reconstitution immunitaire à partir des cellules souches, dérivées du greffon.

La mise en présence de deux systèmes immunitaires crée un contexte conflictuel à l'origine des trois complications majeures de l'allogreffe : le rejet, la réaction du greffon contre l'hôte (GvH) et la lenteur de la reconstitution immunitaire. Cette dernière, associée à l'immunosuppression engendrée par le GvH et ses traitements favorisent la survenue de certaines complications post-allogreffe parmi lesquelles les infections virales, notamment celles à l'Herpes viridae, le virus d'Epstein-Barr(EBV) et le cytomégalo virus(CMV) et à adénovirus (ADV) qui sont responsables d'une morbidité et une mortalité importantes [1].

Partie 1:
Généralités sur les cellules
souches



A. DEFINITIONS :

Un être humain est composé d'environ cent mille milliard de cellules, appartenant à environ deux cent types différents, dont la plupart ne se divise plus, alors que, à peu près vingt millions de cellules de notre organisme se divisent pour maintenir constant le nombre de cellules (remplacement des cellules disparaissant par vieillissement ou par lésion), ces cellules sont appelées ; cellules souches [2].

A.1.Les cellules souches :

Une cellule souche est une cellule indifférenciée capable de s'auto-renouveler et de produire d'autres cellules qui s'engagent dans une ou plusieurs voies de différenciation. (figure1)

➤ Auto-renouvellement :

C'est la capacité d'une cellule de se diviser à l'identique, et ceci pendant des périodes indéfinies, cette propriété conduit à la formation d'un clone cellulaire .La multiplication de cellules sans différenciation permettant de maintenir intact un pool de cellules souches.

➤ Différenciation :

C'est la capacité d'une cellule de donner, dans un environnement défini, différent types cellulaires fonctionnels en réponse à un signal exogène .La cellule se divise en se différenciant de façon irréversible et perd sa totipotence pour devenir une cellule «engagée»

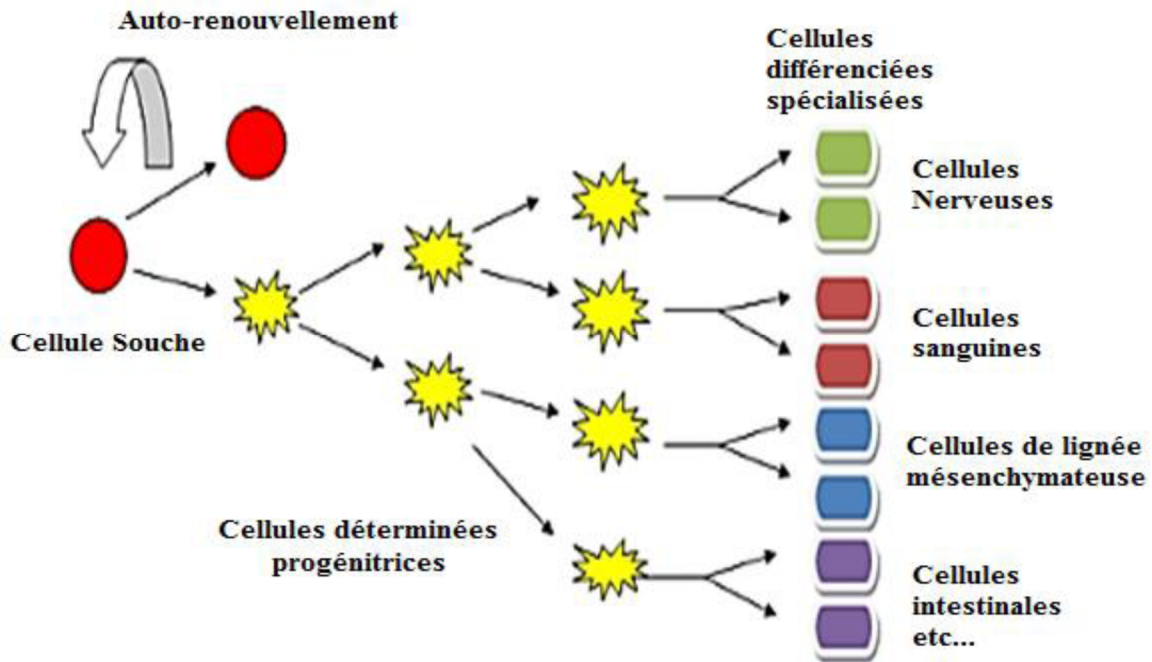


Figure 1: Auto-renouvellement et différenciation d'une cellule souche [164].

A.2. Classification des cellules souches :

Il y a plusieurs classifications possibles de CS : Classification physiologique, qui suit la succession chronologique des CS se succédant au cours de la vie de l'embryon au fœtus et à l'adulte. On peut aussi les classer selon leur potentiel de différenciation au cours de développement.

A.2.1. Selon la capacité de différenciation :

La différence c'est le nombre de cellules différentes que peut donner la cellule souche. Une cellule souche totipotente pourrait être à l'origine de la formation d'un organisme entier. Une cellule souche pluripotente peut donner naissance à des cellules de tissus différents, les cellules souches multipotentes donnent naissance à plusieurs types cellulaires différents, les cellules souches unipotentes ne peuvent engendrer qu'un seul type de cellule différenciée.

L'autre différence se fait au niveau du stade auquel on peut obtenir ces différentes cellules souches.

A.2.1.1. Les cellules souches totipotentes :

Ce sont des cellules issues des premières divisions de l'œuf fécondé (zygote et blastomère jusqu'au 4^{ème} jour), chacune des 8 premières cellules de l'œuf fécondé est totipotente.

Elles peuvent potentiellement donner naissance à un individu complet en donnant naissance à l'embryon plus les annexes embryonnaires. Elles sont donc capables de donner naissances à tous les types de cellules constituant un organisme y compris les cellules extra-embryonnaires.

Comme les autres cellules souches sont capables de s'autorenouveler et se différencier, elles sont rares, quiescentes, assurent le maintien du stock des cellules souches et assurent la production de cellules différenciées.

A.2.1.2. Les cellules souches pluripotentes :

Ces cellules souches contrairement aux totipotentes sont incapables d'engendrer un organisme dans sa totalité, c'est-à-dire qu'elles ont vocation à former tous les tissus de l'organisme mais ne peuvent à elles seules aboutir à la création d'un individu complet. Elles proviennent en effet de la masse cellulaire interne du blastocyte (au stade de 40 cellules).

On observe une perte progressive des capacités d'auto-renouvellement au fur et à mesure de la différenciation des cellules. Cette différenciation en cellule différenciée à partir d'une cellule pluripotente nécessite des facteurs cellulaires ou solubles, il s'agit en fait de facteur de croissance spécifique de chaque différenciation.

A.2.1.3. Les cellules souches multipotentes :

Ces cellules sont présentes dans l'embryon ou dans l'organisme adulte, elles sont à l'origine de plusieurs types cellulaires différenciées mais conservent leur capacité à s'autorenouveler. Ces cellules peuvent donner naissance à plusieurs types de cellules, mais elles sont déjà engagées dans une certaine condition. On dit que ce sont des cellules déterminées. Leurs potentialités sont donc plus restreintes que celle des cellules souches pluripotentes.

Parmi les cellules souches multipotentes, on trouve par exemple les cellules souches hématopoïétiques (CSH) qui peuvent conduire aux différentes cellules du sang (globules rouges, plaquettes, granulocytes, lymphocytes T ou B, monocyte), les cellules de la crête neurale qui peuvent notamment se différencier en mélanocytes, en neurones et en cellules gliales du système nerveux périphériques, les CSM qui peuvent conduire à des adipocytes, des ostéoblastes, des chondrocytes, des cellules musculaires et les cellules endothéliales.

A.2.1.4. Les cellules souches unipotentes :

Ces cellules souches pouvant donner un type seulement de cellules différenciées avec la capacité de s'auto-renouveler, telles les cellules souches épidermiques qui peuvent se différencier uniquement en kératinocytes.

A.2.2. Selon la localisation physiologique et le stade de développement de l'individu :

Il existe deux types de cellules souches qui se distinguent sur le plan de leur origine et de leur potentiel de prolifération et de différenciation : les cellules souches embryonnaires et les cellules souches adultes.

A.2.2.1. Les cellules souches embryonnaires(CSE) :

Il a été mis en évidence en 1981 chez la souris la possibilité d'isoler et de cultiver ces cellules embryonnaires in vitro et de les faire proliférer indéfiniment tout en maintenant leur capacité de pluripotence, c'est-à-dire la capacité de générer tous les tissus différenciés [3]. Ces travaux ont été couronnés par le prix Nobel de médecine en 2007. Ces résultats ont été reproduits chez l'homme en 1998 par les équipes de James Thomson, de Joseph Itskovitz-Eldor et de Benjamin Reubinoff par la dérivation des premières lignes de CSEh [4,5].

a. Origine :

Les cellules souches embryonnaires humaines(CSEh) sont des cellules isolées in vitro à partir de la masse cellulaire interne (MCI) du blastocyte au 5^{ou} 6^{ème} jour de l'embryogenèse. Les MCI sont des cellules qui ont la propriété in vivo de donner naissance aux trois feuillets embryonnaires ; endoderme, mésoderme et ectoderme ; qui sont à l'origine de tous les tissus d'un être humain adulte. (figure2)

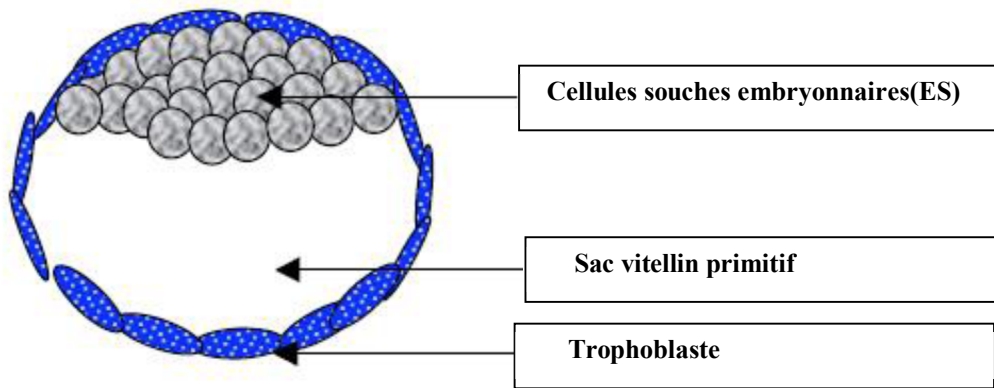


Figure 2 : Schéma d'un embryon au 5e jour après la fécondation (Blastocyste) [71].

b. Propriétés des CSE :

Les cellules embryonnaires humaines ont la capacité de s'autorenouveler et de se différencier, pour former tous les tissus qui constitueront l'organisme. Jusqu'au septième jour de la vie embryonnaire, sont totipotentes. Après ce stade, elles perdent cette capacité de constituer un organisme entier. Néanmoins, les cellules souches embryonnaires, appelées alors « cellules souches embryonnaires germinales », conservent un potentiel de différenciation, qui leur permet de former tous les tissus de l'organisme, y compris ceux de la lignée germinale. Elles sont dites « pluripotentes » [6] (Figure 3). In vitro, les CSEh sont des lignées capables de proliférer indéfiniment et elles ont un caryotype généralement normal.

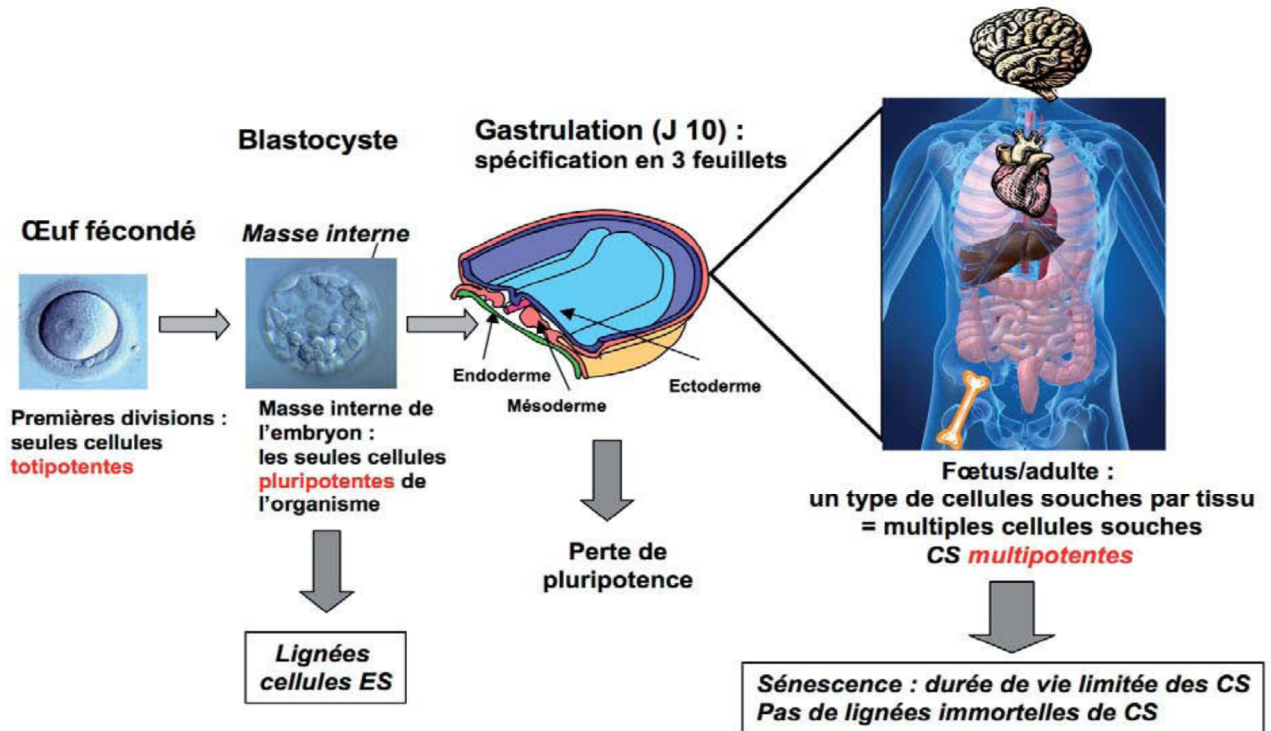


Figure 3 : Cellules souches embryonnaires et fœtales/adultes des entités très différentes se succédant au cours de la vie [12].

c. Avantages et inconvénients :

➤ Avantage :

- ◆ Les cellules souches embryonnaires humaines sont capables de donner naissance aux divers types de cellules de l'organisme .Ce sont des cellules pluripotentes.
- ◆ Les cellules souches embryonnaires humaines sont les seules cellules souches pluripotentes pouvant être aisément isolées et cultivées en quantités suffisantes pour être utiles.

➤ **Inconvénients :**

◆ Ces cellules peuvent être isolées à partir d'embryons surnuméraires ou issues d'avortement, leur utilisation soulève donc des problèmes d'éthique. Notamment, pour certains groupes, religieux ou non, qui considèrent l'extraction de cellules souches embryonnaires comme une atteinte à l'intégrité de l'embryon. La diversité de la réglementation, dans la seule Europe, montre à quel point cette question est difficile à trancher pour les pouvoirs publics [7].

◆ Problèmes de rejet éventuel lorsque les CS sont insérées dans un organisme : Les cellules souches embryonnaires, implantées dans un autre organisme que celui dont elles sont originaires, peuvent induire une réponse immunitaire car elles sont reconnues comme du non-soi. On peut donc voir apparaître des phénomènes de rejet [8, 9].

◆ Des études sur la souris ont montré que l'utilisation de ces cellules a engendré l'apparition de tumeurs. En effet, ces cellules possèdent une grande capacité de prolifération qui peut, à terme, être incontrôlable. Le risque de cancérogenèse après administration de CSE pourrait être proportionnel à leur capacité de prolifération. Ce risque proviendrait des possibilités accrues de mutation lorsque la cellule est plus indifférenciée et qu'elle subit un nombre de divisions élevé [8, 10].

d. Débats éthiques :

Les CSEh soulèvent des débats éthiques importants en France et dans plusieurs pays. En France la loi n°94-653 du Juillet 1994 relative au respect du corps humain avait pénalement interdit la recherche sur l'embryon, les évolutions législatives constatées à l'étranger ont incité les pouvoirs publics français à reconsidérer cette prohibition. Pour ces raisons, en 2004, le principe de l'interdiction a été maintenu mais assorti d'un moratoire d'une durée de 5 ans. Par la suite et à l'issue de riches débats parlementaires, c'est le principe de l'interdiction de la recherche sur l'embryon (avec des possibilités de dérogation) qui l'a emporté dans la dernière loi de bioéthique adoptée en Juillet 2011. Dernièrement, l'obtention de certains résultats concluants dans le domaine de la recherche a poussé le législateur français à modifier de façon quasi inaperçue la loi du 7 Juillet 2011 en autorisant, sous

conditions, la recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires. En 2013, le parlement français a adopté la proposition de la loi adoptée par le Sénat, tendant à modifier la loi n°2011-814 du 7 Juillet 2011 relative à la bioéthique en autorisant sous certaines conditions la recherche sur l'embryon et sur les cellules souches embryonnaires [11].

A.2.2.2. Les cellules souches fœtales et adultes :

Une fois l'organogénèse établie, il n'y a plus de CS pluripotentes et les CS sont « éclatées » en de multiples tissus, dont chacun a une structure spécifique profondément différente des autres ; chaque tissu contient son propre « réservoir » de CS, dont le potentiel est restreint à ce seul tissu et qui sont incapables de réparer un autre tissu, que celui pour lequel elles ont été spécifiées au début du développement. Ainsi s'explique la multiplicité des CS fœtales et adultes, qui partagent peu de points communs. Citons en trois :

- ◆ Très minoritaires dans les tissus, elles sont généralement enfouies dans une niche particulière et donc difficiles d'accès.
- ◆ Elles vieillissent avec l'individu, par accumulation de lésions provoquées par les agressions de l'environnement, les « déchets » de leur métabolisme, mais aussi les multiples divisions cellulaires et elles perdent progressivement leur potentiel.
- ◆ Malgré une certaine controverse, elles ne sont pas pluripotentes mais au mieux multipotentes [12].

a. Les cellules souches fœtales :

Ces cellules sont issues de tissus fœtaux à un stade beaucoup plus tardif (5-9 semaines) que le stade de blastocyte embryonnaire, du cordon ombilical ou du placenta [13].

Pour classer simplement ces cellules, on peut les opposer en cellules somatiques et germinales. Les cellules somatiques sont multipotentes, les tissus prélevés sont de plusieurs origine (foie, tissu neural) [10].

Les cellules germinales correspondent aux cellules souches embryonnaires germinales humaines (EG). Les cellules EG proviennent des cellules germinales primordiales issues des crêtes génitales de fœtus avortés entre 8 et 11 SA et sont cultivées sur tapis de cellules avec

du sérum. Les premières lignées humaines ont été dérivées en 1998 par Shambloott et Gerhart [14,15]. Deux facteurs de croissance sont particulièrement importants pour la culture : le leukemia inhibitory factor(LIF) et le basic fibroblast growth factor (b-FGF). L'isolement des EG et leur culture paraissent plus difficiles et moins reproductibles que ceux des ES [16]. Les colonies d'EG obtenues à partir du huitième jour sont ensuite propagées. Leur durée de vie est d'au moins au moins 70 passages, tout en gardant un caryotype normal et une pluripotente.

b. Les cellules souches adultes :

b.1 Définition :

Les cellules souches adultes sont des cellules indifférenciées présentes dans les tissus et organes adultes. Elles sont généralement multipotentes, c'est -à-dire qu'elles sont capables de donner naissance à différentes lignées cellulaires d'un tissu donné. Elles sont la base du renouvellement naturel d'un tissu et de sa réparation à la suite d'une lésion.

Les cellules souches adultes ont un potentiel de remplacement et présentent certains avantages :

- ◆ Une tolérance immunitaire et un moindre risque de tumeur en cas de greffe autologue.
- ◆ Une grande stabilité chromosomique.
- ◆ Aucune problématique éthique puisque le prélèvement relève du don d'un adulte informé et consentant.

b.2 Caractéristiques :

Les très nombreux travaux expérimentaux réalisés in vitro, ou après transplantation chez l'animal, permettent d'attribuer aux cellules souches adultes les caractéristiques suivantes qui les distinguent des CSE : [17]

- ◆ Certaines sont multipotentes: elles peuvent produire des cellules de morphologie et de fonction très différentes, généralement groupées au sein d'un même organe ou tissu. C'est le cas de certaines cellules adultes et des cellules souches hématopoïétiques.

- ◆ D'autres sont au contraire unipotentes .Elle ne produisent qu'un seul type de cellules : il en est ainsi des cellules de l'épiderme qui ne produisent que des kératinocytes.
- ◆ D'autres ont un potentiel intermédiaire : c'est le cas des cellules souches mésenchymateuses, localisées dans la moelle osseuse et qui produisent des cellules osseuses, cartilagineuses, les adipocytes, et peut-être des cellules musculaires ; ou encore des hépatocytes fœtaux, qui produisent des hépatocytes et des cellules biliaires [18].
- ◆ Plasticité : On pensait que les cellules souches chez l'adulte n'étaient pas réellement pluripotentes, c'est-à-dire qu'elles n'étaient capables de ne donner que des cellules d'un même lignage cellulaire .Par exemple, les cellules souches hématopoïétiques donnent naissance à tous les types de cellules sanguines. Mais de récentes observations ont permis de supposer que ces cellules souches possédaient un potentiel de différenciation dépassant leur lignage cellulaire : Ce phénomène est nommé la plasticité. Cela revient à dire que les cellules souches adultes ne sont pas pluripotentes stricto sensu mais qu'elles peuvent, par différents mécanismes, se comporter comme tel. Par exemple, il a été montré que les CSH pouvaient donner naissance non seulement au lignage hématopoïétique mais aussi à des hépatocytes [19].

Le mécanisme exact de la plasticité des cellules souches adultes n'est pas encore bien démontré et reste sujet à controverse. Les premières études sur le sujet, ont été réalisées par VERFAILLIE et LAKSHMIPATHY, mais ces études sur des souris n'ont pas pu être reproduites sur d'autres modèles animaux existerait quatre mécanismes possibles : la transdifférenciation directe et indirecte, la fusion cellulaire et la présence d'une cellule pluripotente vraie. [19, 20] .La transdifférenciation décrit la conversion d'une cellule d'un certain lignage en un autre lignage avec perte concomitante des marqueurs et des fonctions liés au tissu d'origine ; et acquisition de nouveaux marqueurs et de nouvelles fonctions, sans passer par une division cellulaire [21] .Cela implique donc des reprogrammations nucléaires avec altération des gènes clés du développement et représente de ce fait, une forme de

métaplasie. Il existe deux types de transdifférenciation : directe et indirecte. La transdifférenciation directe, correspond à un changement de lignage cellulaire sans repasser par un stade indifférencié. La transdifférenciation indirecte, correspond à un retour au stade indifférencié puis une entrée dans une nouvelle voie de différenciation. Ce concept de plasticité est difficile à mettre en évidence .C'est pour cela que les chercheurs ont avancé d'autres explications comme la fusion cellulaire entre une cellule souche et une cellule différenciée [21].Enfin, certains auteurs pensent qu'il existe de réelles cellules souches pluripotentes vraies au sein de l'organisme adulte mais que l'on n'aurait pas encore mises en évidence pour le moment dans tous les tissus [21].

B. LES CELLULES SOUCHES ADULTES :

On connaît au moins deux types de cellules souches multipotentes : Les cellules souches mésenchymateuses (CSM) et les cellules souches hématopoïétiques(SCH).

B.1.Les cellules souches mésenchymateuses :

B.1.1.Généralité :

Les cellules souches mésenchymateuses(CSM) constituent une population de cellules souches adultes, identifiées d'abord dans les tissus squelettiques puis dans l'ensemble de l'organisme. Elles sont non seulement capables de se différencier en cellules spécialisées des tissus squelettiques ; chondrocytes, ostéocytes, adipocytes et fibroblastes ; mais sont également la source d'un large éventail de médiateurs solubles sécrétés constituant leur sécrétome et leur permettant d'interagir avec de nombreux protagonistes cellulaires .Les CSM font partie du microenvironnement médullaire hautement spécialisé au sein duquel elles participent notamment à la régulation de l'auto-renouvellement et de la différenciation des CSH [22].

Depuis une quinzaine d'années, leurs propriétés et leur profil de sécurité ont conduit au développement de nombreux essais thérapeutiques dans des domaines variés [23]. Elles constituent un outil prometteur pour la régénération et la réparation tissulaire. De plus, elles présentent une action inhibitrice in vitro et in vivo sur les fonctions des lymphocytes T et B et sur les cellules NK (Natural killer) et dendritiques. Bien que les mécanismes exacts de l'action immunomodulatrice des CSM ne soient pas totalement définis, leurs propriétés immunosuppressives ont conduit à leur utilisation en clinique humaine pour le traitement de la réaction de greffon contre l'hôte (GVH) et plus récemment de certaines maladies auto-immunes.

En effet, l'utilisation clinique de ces cellules multipotentes a longtemps été envisagée sous l'angle du remplacement de type cellulaire déficient ou insuffisamment nombreux. Aujourd'hui leurs multiples autres caractéristiques amènent à utiliser leurs capacités à moduler la mort cellulaire, la réponse immune ou encore la cicatrisation.

B.1.2. Origine, sources et rôle physiologique :

La description de cellules souches ou progéniteurs multipotents débute au milieu des années 1970 où les travaux de Friedenstein et al. ont montré que des cellules issues de la moelle osseuse étaient capables de se différencier en ostéoblastes [24]. Ces séries d'études publiées par Friedenstein ont permis une première définition fonctionnelle des progéniteurs mésenchymateux présents dans la moelle : les unités formant des colonies fibroblastiques (CFU-F) [25]. La découverte des capacités de différenciation ostéoblastique, chondrocytaire et adipocytaire de cette population adhérente au plastique, et la capacité d'auto-renouvellement ont ensuite conduit Caplan à proposer en 1991 la dénomination de « cellules souches mésenchymateuses » [26].

Des cellules au phénotype proche de moelle osseuse ont ensuite été identifiées dans un grand nombre de tissus de soutien adultes (tissu adipeux, reins, foie, poumons) et fœtaux (cordon, placenta) [27, 28].

Le rôle physiologique de ces cellules est vraisemblablement le remplacement des cellules différenciées mortes de « mort naturelle » (apoptose) ou lors de processus pathologiques. Lors de la division cellulaire, les cellules multipotentes donnent naissance à des cellules identiques (permettant de maintenir leur propre pool) et des cellules précurseurs qui vont s'engager progressivement vers un type cellulaire de plus en plus spécifique.

B.1.3. Caractéristiques et propriétés :

Les CSM présentent des caractéristiques qui en font des candidats très attractifs en thérapeutique.

B.1.3.1. Multipotence :

Initialement décrites comme capables de se différencier en plusieurs lignées mésenchymateuses, dans des milieux de cultures adéquats [29], leur capacité à se différencier en cellules de lignées mésodermiques, endodermiques et neuro-ectodermiques comme des cellules endothéliales [30], épithéliales alvéolaires [31], des hépatocytes [32] et des neurones [33], a également été rapportée.

Le caractère multipotent des CSM ouvre la voie au domaine de la réparation tissulaire, en chirurgie plastique reconstructive pour le tissu adipeux, en pathologie cardiaque ; dans le cas de l'infarctus du myocarde ; quelques études cliniques ont montré une récupération de la fonction cardiaque après l'injection intracoronarienne de CSM [34,35], en orthopédie pour la reconstitution osseuse et cartilagineuse, en neurologie pour la réparation de tissu cérébral après une ischémie cérébrale. Récemment, Venkataramana et ses collaborateurs ont observé une amélioration des symptômes neurologiques après avoir injecté des CSM localement chez sept patients atteints de la maladie de parkinson [36].

De cette propriété de multipotence dérive une nouvelle technique qui est en cours de développement appelée : Ingénierie cellulaire et tissulaire qui se base sur l'utilisation des CSM isolées de moelle osseuse, de tissus adipeux ou de cordon ombilical comme produit thérapeutiques pour la médecine régénératrice.

Néanmoins seule une petite fraction des CSM issues de MO ou de sang de cordon ombilical serait capable d'exprimer une telle pluripotence, proche de celle des CE [37].

B.1.3.2. Marqueurs de surface :

Après expansion des cellules in vitro, le phénotype des CSM est caractérisé par l'expression de marqueurs non spécifiques comme le CD105, CD73, CD90 CD166 CD29 et CD44. D'autres marqueurs des cellules hématopoïétiques et endothéliales brillent par leur absence, tels que le CD14 des macrophages, CD31, CD34 et CD45 [37]. L'absence de marqueur spécifique des CSM est un obstacle majeur à leur isolement rapide ex vivo. Des avancées sont néanmoins rapportées dans ce domaine, où des cellules de culture primaire positives pour des marqueurs tels que CD349, SSEA-4 [38] et CD271, montrent une certaine spécificité pour la multipotence et la clonogénicité.

B.1.3.3. Adressage des CSM vers les tissus lésés :

L'intégration de signaux de souffrance tissulaire, ou de paramètres physiques, comme l'hypoxie, semblent être des moteurs induisant la sortie des CSM de leur niche et leur migration le long d'un gradient de chimiokines dont CXCL-12 (SDF-1) [39]. Cette capacité d'adressages vers un tissu lésé existant physiologiquement est mise à profit en thérapeutique pour des lésions tissulaires diffuses ou difficiles d'accès. Ces cellules exercent un effet protecteur après leurs injections en quantité importante systémique.

B.1.3.4. Immunomodulation :

Les CSM sont capables de moduler la réponse immunitaire in vitro et in vivo [37]. Les CSM humaines expriment de faibles quantités d'antigènes HLA de classe I et n'expriment pas d'antigènes HLA de classe II. De plus, elles n'expriment pas les molécules de costimulation (CD40, CD80 et CD86). Ces caractéristiques rendent les CSM moins immunogènes, ce qui permet leur transplantation chez un hôte allogénique immunocompétent sans provoquer de réaction de rejet. L'activité immunosuppressive n'est pas spontanée mais nécessite que les CSM soient conditionnées au sein d'un environnement approprié. Il a été montré que γ (IFN- γ) est un puissant inducteur de ce type d'activité [40].

Les CSM suppriment de façon réversible la capacité des lymphocytes T humains à proliférer et ce, aussi bien par l'intermédiaire de facteurs solubles, que via un contact intercellulaire [41,42]. De plus, les CSM peuvent avoir un impact sur d'autres cellules participant à la réponse immune, tel que les lymphocytes B [43], les cellules dendritiques [44] et les cellules « natural killer » (NK) [45].

In vivo, un des exemples impressionnant des effets immunosupresseurs de ces cellules est le contrôle, par une greffe de CSM allogéniques, de cas de maladie du greffon contre l'hôte (GVHD) [46, 47]. (Figure 4)

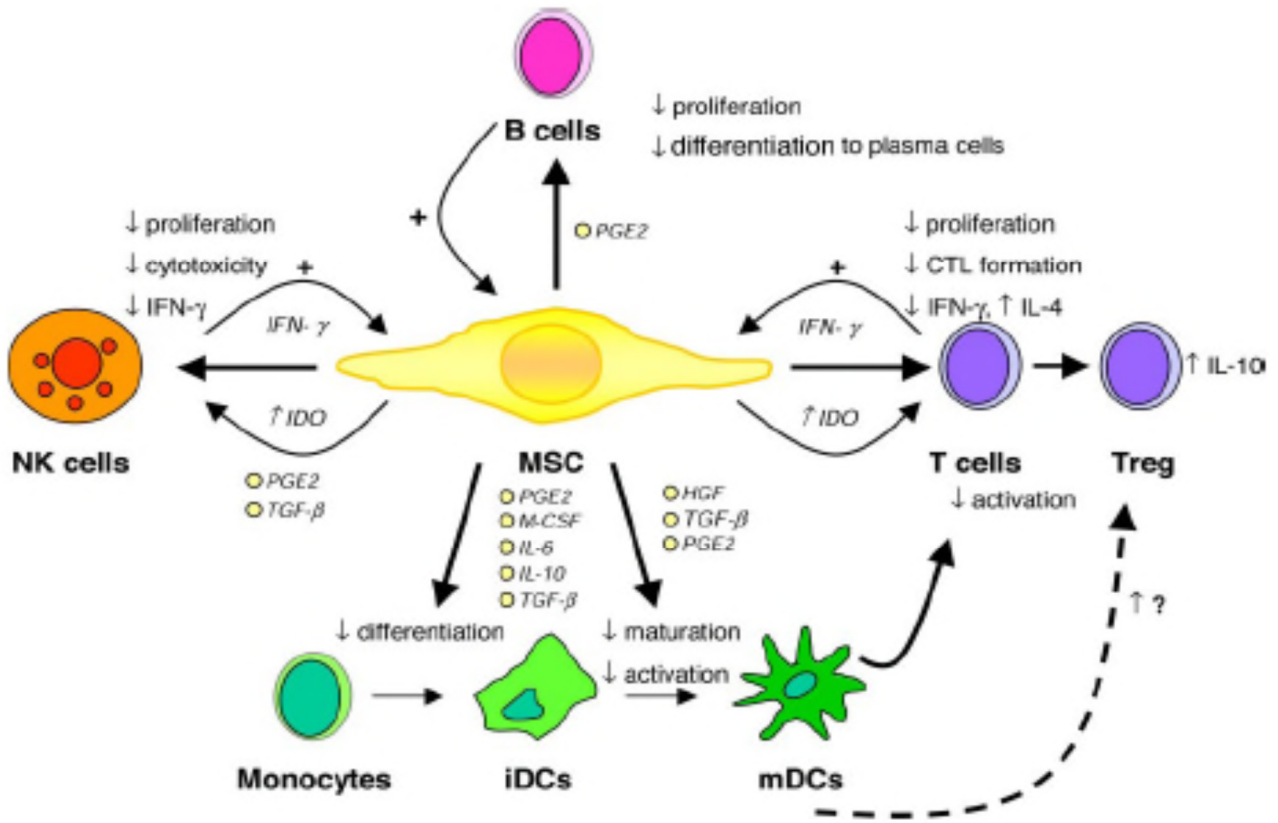


Figure 4 : Résumé des effets immunomodulateurs des CSM [42].

CTL = Lymphocytes T cytotoxiques; HGF = « hepatocyte growth factor »; IDO = « indoleamine 2, 3-dioxygenase »; PGE2 = prostaglandine E2; TGF- β = « transforming growth factor β ».

B.1.3.5. Soutien de l'hématopoïèse :

Les cellules souches mésenchymateuses assurent un rôle essentiel dans l'hématopoïèse en régulant l'auto-renouvellement et la différenciation des cellules souches hématopoïétiques par la production de facteurs de croissance, de cytokines régulatrices et l'établissement d'un tissu de soutien [48].

Ces propriétés ont été évaluées chez l'homme afin d'améliorer la prise de greffe des cellules hématopoïétiques.

B.2. Les cellules souches hématopoïétiques (CSH):

B.2.1. Généralités :

Les CSH sont à l'origine de toutes les cellules sanguines et du système immunitaire. L'existence de ces cellules a été mise en évidence dès le début des années 60 dans le modèle murin [49], dans lequel l'aplasie médullaire létale consécutive à une irradiation pouvait être traitée par une greffe de moelle osseuse. De plus, ce travail a mis en évidence l'existence de clones dans la rate (appelés colony forming unit-spleen, CFU-S) contenant des progéniteurs capables de générer des colonies érythroïdes, granuleuses, monocytaires et mégacaryocytaires. L'injection d'une fraction de ces cellules chez un hôte irradié était capable de conduire à une reconstitution hématopoïétique.

Les CSH sont très peu nombreuses ; elles ne représentent qu'un très faible pourcentage des cellules médullaires (de 0,01 à 0,05%) [50], et ne présentent pas de caractéristiques morphologiques spécifiques reconnaissables par coloration cytologique. Cependant, ces cellules peuvent être caractérisées par des tests fonctionnels.

Les CSH humaines expriment le CD34, CD45, AC133, Thy1 et cKit et sont négatives pour le CD38. Elles sont localisées principalement dans le stroma médullaire mais sont également présentes dans le sang de cordon ombilical ou encore en faible quantité dans le sang périphérique.

B.2.2. Origine des CSH :

Aujourd'hui, on sait qu'il existe un précurseur unique, appelé hémangioblaste, à toutes les cellules de l'hématopoïèse, c'est-à-dire la fonction de fabrication, par la moelle osseuse, des divers éléments figurés du sang. L'hémangioblaste est en fait non seulement le précurseur de toute l'hématopoïèse, mais aussi celui de l'endothélium vasculaire. Dans la vie embryonnaire, les hémangioblastes apparaissent au cours de la troisième semaine dans le sac vitellin où ils assurent la vascularisation ainsi que la formation des précurseurs purement myéloïdes, puis ils se développent une semaine plus tard de façon indépendante au niveau de la paroi ventrale de l'aorte et de l'artère vitelline [51].

B.2.3. Sources des CSH:

Jusqu'à la fin des années 1980, la moelle osseuse était l'unique source de cellules souches hématopoïétiques. Depuis, deux nouvelles sources sont exploitées, ayant chacune des avantages et des inconvénients, mais qui pallient toutes le manque de donneurs familiaux géno-identique :

B.2.3.1. La moelle osseuse :

C'est la première source de CSH, utilisée dans le cadre des allogreffes et des autogreffes. La moelle est prélevée sous anesthésie, au niveau des crêtes iliaques ou sternum. Le volume prélevé varie en fonction du poids, il est de l'ordre de 10 à 20 ml/kg du poids du receveur. Les progéniteurs hématopoïétiques se trouvent dans les cellules nucléées de la moelle, celle-ci sont cryopréservées jusqu'à ce qu'elles soient utilisées. Les principaux inconvénients sont ceux liés à l'anesthésie et les douleurs au site de ponction. Ce type de ponction est de plus en plus abandonné au profit du prélèvement de cellules souches du sang périphérique.

B.2.3.2. Les cellules souches périphériques :

Le sang périphérique adulte renferme physiologiquement un très petit nombre de CSH non utilisable en pratique. Dernièrement, des chercheurs ont montré que le sang circulant peut contenir suffisamment de cellules souches périphériques (CSP) en mobilisant les CSH de la moelle osseuse pour les faire migrer vers la circulation sanguine. De nombreux travaux

montrent que les cellules souches mobilisées par le facteur de croissance G-CSF (granulocyte colony stimulating factor) permettent une prise de greffe plus rapide que sans cette mobilisation [52]. Les CSH d'origine périphérique sont donc utilisées dans les autogreffes et de plus en plus souvent dans les allogreffes.

L'intérêt des greffes de cellules souches du sang périphérique est lié au fait que l'anesthésie générale et l'acte chirurgical liés à la greffe de moelle est évitée et le recueil des cellules est plus aisé que celui des cellules médullaires. Les cellules souches sont en nombre suffisant mais le greffon contient un nombre excessif de cellule T.

B.2.3.3. Le sang de cordon ombilical :

Le sang placentaire qui reflue du cordon ombilical après l'accouchement contient un nombre significatif de cellules souches hématopoïétiques. Elles ont été mises en évidence en 1974 par Knutzon [53]. L'utilisation de ces cellules dans les transplantations est suggérée en 1989 par Browmeyer et ses collaborateurs ; la première greffe réussie, réalisée chez un enfant avec une anémie de Fanconi, est rapportée la même année par Gluckman et al. [52]. Ce sang peut donc être prélevé juste après la naissance, sans aucun dommage pour la mère ni le bébé et servir de greffon de SCH même si le volume de sang disponible est faible (80 à 200 ml). Une des particularités de ces cellules souches du sang du cordon est qu'elles ne sont pas tout à fait immunocompétentes. Cela signifie qu'elles sont relativement immatures sur le plan immunologique et que la greffe peut être envisagée dans des situations où le donneur et le receveur ne sont pas totalement compatibles au niveau de leur système HLA, sans pour autant aggraver les risques de complication immunologiques (réaction de greffon contre l'hôte, voir plus loin).

Les greffons comportent moins de CSH qu'une moelle osseuse prélevée chez un donneur adulte. C'est la raison pour laquelle cette technique est souvent utilisée en oncologie pédiatrique, car la quantité de CSH nécessaire pour greffer un enfant de 10 kilos est 5 fois moindre que la quantité de cellules nécessaire pour greffer un individu de 50 kilos.

Les cellules souches de sang de cordon sont plus immatures et pauvres en cellules T. Une incidence et une sévérité diminuée de la GVH sont observées. La prise de greffe est plus lente, et un risque supérieur de non-prise de greffe est observé. La quantité de cellules souches peut être insuffisante pour un adulte et enfin, un seul recueil est possible [52].

B.2.4. Propriétés :

Les CSH sont présentes en très petit nombre dans la moelle osseuse. Pourtant elles produisent des milliards de cellules sanguines chaque jour, et ce, durant toute la vie d'un individu. Les CSH sont douées de deux propriétés principales. La première est la capacité à s'auto-renouveler c'est-à dire à se reproduire à l'identique par division cellulaire. La deuxième propriété est leur capacité à se différencier en de multiples lignées de cellules sanguines. En raison de cette propriété à donner naissance à plusieurs types cellulaires différents, les CSH sont dites multipotentes.

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

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

C. LOCALISATION, PHYSIOLOGIE, CARACTERISATION ET POTENTIALITE :

C.1. La niche hématopoïétique :

C.1.1. Définition d'une niche :

La niche est le microenvironnement qui protège les cellules souches de stimuli de différenciation, d'apoptose ou d'autres stimuli qui mettraient à l'épreuve leur réserve et qui limite aussi leur expansion excessive. C'est une structure anatomique comprenant des composants cellulaires et non cellulaires qui intègrent des facteurs locaux et systémiques contrôlant le « comportement » des cellules souches [54] :

- les signaux qui émanent de la niche régulent la prolifération, la survie et la différenciation des cellules souches.
- l'adhésion des cellules souches avec les cellules stromales et/ou la matrice extracellulaire ancre les cellules souches dans leur niche à proximité des signaux d'auto-renouvellement.
- l'environnement spécifique mettant en relation les cellules souches avec les cellules de soutien peut polariser les cellules souches dans la niche pour promouvoir la division cellulaire asymétrique.
- les facteurs sécrétés peuvent attirer ou au contraire repousser les cellules souches permettant leur migration.

La niche est donc un microenvironnement spécifique, dans lequel se trouvent les cellules souches, qui maintient l'homéostasie tissulaire : régulation de la balance entre quiescence, auto-renouvellement, mobilisation et différenciation.

Les niches les plus connues et étudiées sont les niches des cellules souches germinales de la drosophile, la niche des CSH, des cellules souches intestinales et celle du follicule pileux.

C.1.2. La niche des CSH :

Le concept de niche des CSH est le premier à être proposé en 1978 par Schofiels R. et son équipe pour décrire le microenvironnement limité dans lequel ces cellules résident [55]. Il existe en fait deux niches dans la moelle osseuse : la niche endostéale, située à la surface de la région trabéculaire des longs os, et la niche vasculaire, retrouvée dans les sinusoides de la région plus centrale de la moelle osseuse [56].

C.1.2.1 La niche ostéoblastique (endostéale) :

La moelle osseuse est principalement composée de CSH quiescentes encastrées dans la structure osseuse. Plusieurs études ont montré que les CSH peuvent être présentes au niveau de l'endoste dont la surface est recouverte d'ostéoblastes et cette étroite collaboration entre les cellules souches et les ostéoblastes constitue la niche ostéoblastique (Figure 5). Cet arrangement anatomique suggère une communication réciproque entre ces 2 types cellulaires et le rôle potentiel des ostéoblastes dans la régulation des CSH [57]. Ces ostéoblastes jouent un rôle central dans la régulation du tissu osseux, mais aussi dans la régulation de l'hématopoïèse, en sécrétant des facteurs tels que le G-CSF, le GM-CSF, le SDF-1, l'IL-6 ou encore le SCF.

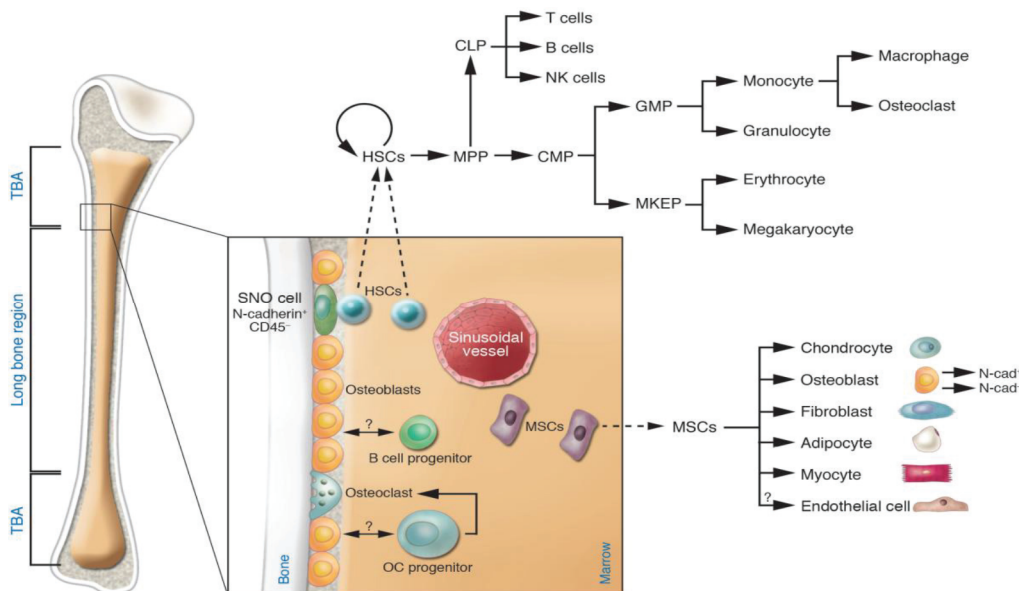


Figure 5 : Schéma de la niche ostéoblastique [58].

Cette interaction des cellules souches avec les ostéoblastes est primordiale à leur maintien: en effet, il a été démontré qu'une diminution du nombre d'ostéoblastes provoque une réduction du nombre absolu de CSH et qu'une augmentation du nombre d'ostéoblastes cause un accroissement spécifique du nombre des CSH [59,60]. Cette augmentation du nombre de CSH se fait par blocage du récepteur BMPR-1A (récepteur d'un inhibiteur de la croissance des ostéoblastes) ou grâce à la parathormone (facteur de croissance des ostéoblastes) qui joue un rôle très important dans la régulation et la taille de la niche hématopoïétique. Les ostéoblastes sécrètent aussi une grande quantité de cytokines et facteurs de croissance connus pour promouvoir la prolifération des cellules hématopoïétiques in vitro.

La molécule d'adhésion N-cadherine, qui est exprimée par les CSH et les ostéoblastes, pourrait qui est exprimée par les CSH et les ostéoblastes, pourrait jouer un rôle primordial dans l'interaction avec les ostéoblastes puisqu'il a été montré qu'elle est essentielle pour la régulation de l'activité des CSH dans la moelle osseuse [61]. La régulation positive de la N-cadherine sur les ostéoblastes est associée à une meilleure adhérence des CSH à la niche, à leur quiescence et à la diminution de leur différenciation. L'expression de la N-cadherine à la surface des CSH est entre autres contrôlée par le proto-oncogène

c-Myc qui régule la balance entre l'autorenouvellement et la différenciation des CSH [62]. Par contre, une certaine controverse existe à ce sujet et d'autres groupes ont montré que la N-cadherine n'était pas nécessaire au maintien des CSH dans la niche hématopoïétique endostéale [63]. D'autres cellules telles que des ostéoclastes, des fibroblastes et des cellules endothéliales pourraient aussi contribuer à la niche endostéale [64].

C.1.2.2. La niche vasculaire :

Comparativement à la niche ostéoblastique favorisant la quiescence des CSH, la niche vasculaire est un microenvironnement alternatif favorisant leur prolifération et différenciation [65]. La niche vasculaire est quant à elle un environnement plus hétérogène composé de cellules péri vasculaires et de cellules stromales comprenant des adipocytes, des cellules endothéliales sinusoïdales et les progéniteurs mésenchymateux [65,66]. Les cellules endothéliales sinusoïdales sont importantes pour la différenciation, la mobilisation et le homing des CSH dans la moelle osseuse [66]. Il reste à déterminer si cette niche est indépendante de celle située sur la face endostée de l'os ou s'il existe des liens entre les deux niches. Un modèle de niche pour les CSH est reporté sur la (figure 6)

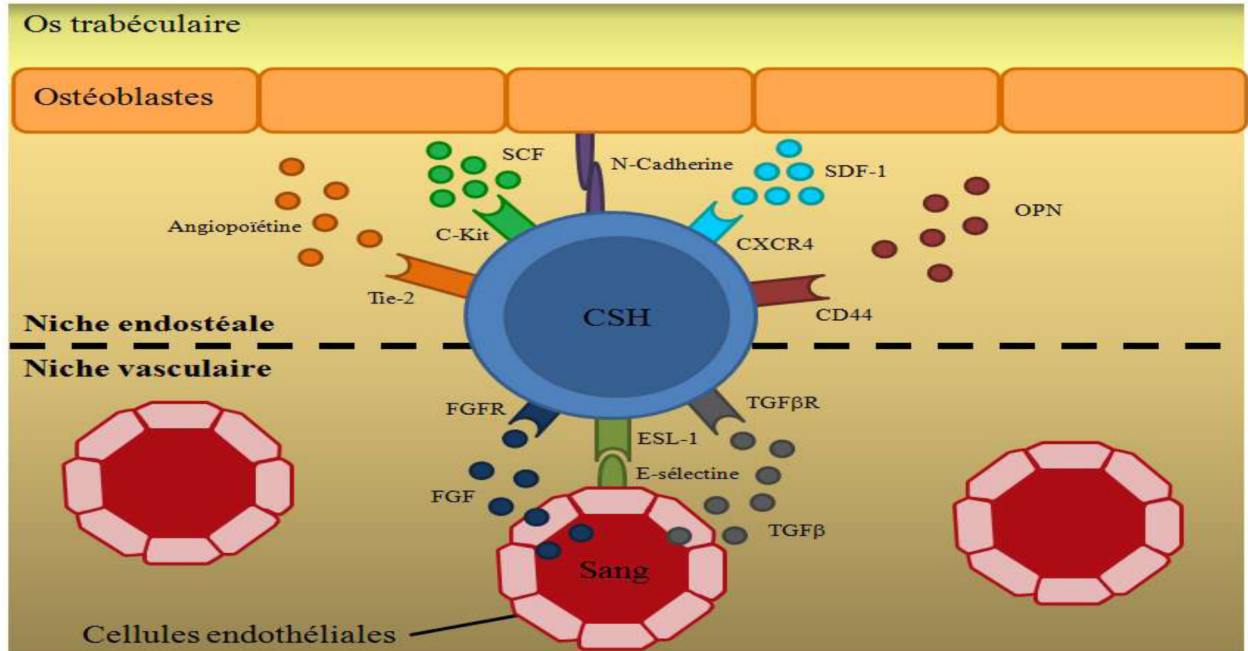


Figure 6 : Structure et interactions de la niche hématopoïétique de la moelle osseuse [67].

Les cellules hématopoïétiques dérivées des CSH quiescentes de la niche endostéale migrent donc vers la niche vasculaire avant de se différencier et d'entrer dans la circulation sanguine. Même si la majorité des CSH résident dans la moelle osseuse chez l'adulte, elles sont capables d'une grande mobilité suite à un dommage à la moelle osseuse, à une hémorragie.

C.1.2.3. Les signaux entre les CSH et la niche :

Bien que l'étude des interactions entre les cellules stromales de la niche et les cellules souches n'en soit qu'à son commencement, l'étude des gènes exprimés par les CSH a permis de déterminer les signaux que les CSH recevaient potentiellement.

On a ainsi pu déterminer le rôle de SHH (*sonic hedgehog* ou SHH), WNT, NOTCH et TGF- β (*transforming growth factor- β*)/ BMP. Par exemple, la voie WNT/ β caténine est importante dans l'auto- renouvellement des CSH. La voie NOTCH est requise pour maintenir les CSH à un stade indifférencié. BMP joue un rôle dans le contrôle du nombre des CSH.

Il faut signaler que les voies sont différentes selon que l'on a affaire à l'hématopoïèse classique ou à une hématopoïèse activée suite à un stress. Par exemple, WNT et NOTCH sont nécessaires à l'hématopoïèse suivant un stress, alors qu'elles ne le sont plus dans le cadre de l'hématopoïèse physiologique chez l'adulte. La voie SDF-1/CXCR4 (*stromal derived factor-1/CX chemokine receptor-4*) semble quant à elle jouer un rôle dans le maintien dans la moelle osseuse des CSH ainsi que dans leur différenciation [67].

Malgré toutes ces avancées, il reste à l'heure actuelle encore beaucoup d'inconnues. Par exemple, le mécanisme par lequel les cellules de la surface endostée, comme les ostéoblastes et les ostéoclastes, influencent le nombre des CSH reste encore inconnu [68].

C.2.Hématopoïèse :

L'hématopoïèse (figure7) est un processus physiologique ayant pour but la production continue et régulée des cellules sanguines. Ces dernières ayant une durée de vie limitée (environ 7 jours pour les plaquettes, 120 jours pour les globules rouges et 24 heures pour les polynucléaires), ce sont 10^{13} cellules qui sont produites chaque jour pour garder un nombre constant de cellules sanguines en situation physiologique. Ce renouvellement permanent est soumis à une régulation fine au sein de la niche hématopoïétique.

Toutes les cellules du sang dérivent de cellules souches hématopoïétiques, un contingent de cellules multipotentes situées dans la moelle osseuse chez l'adulte. L'hématopoïèse est défini comme un système hiérarchique avec à son sommet la HSC qui engendrent successivement les progéniteurs puis précurseurs.

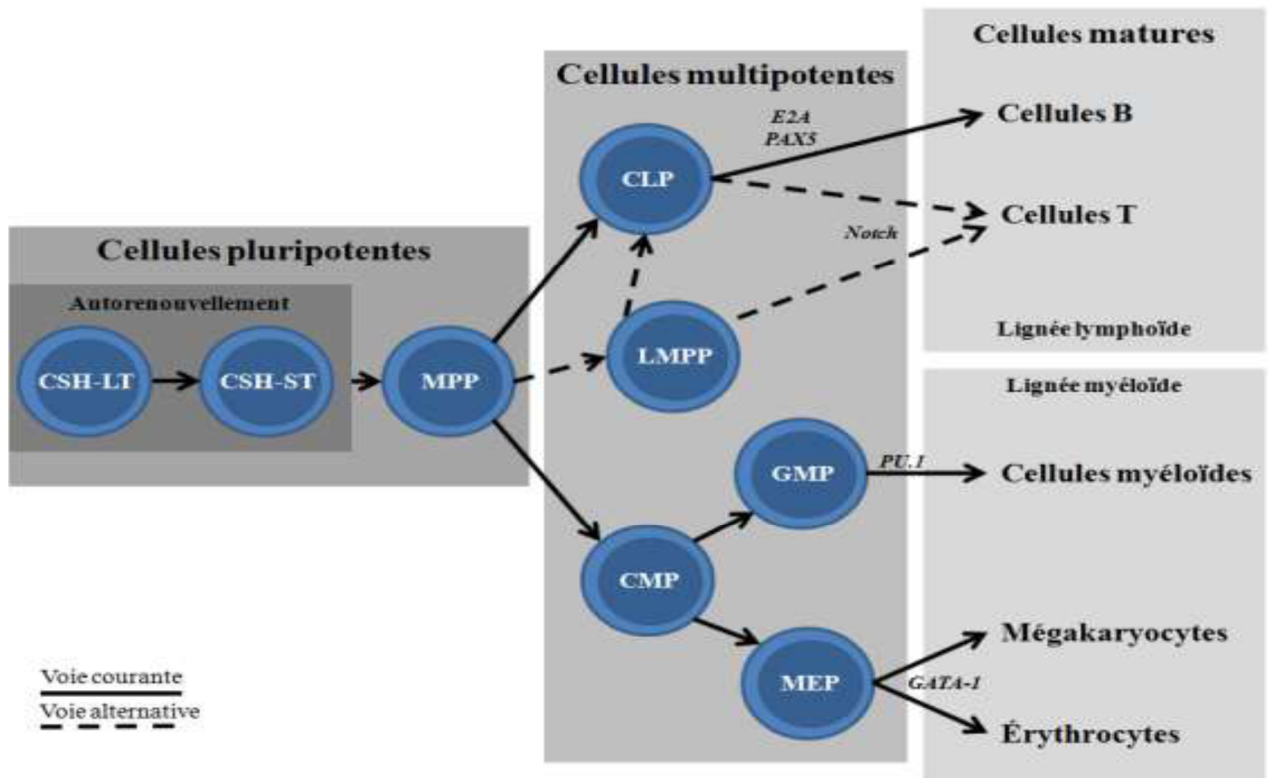


Figure 7 : Hiérarchie du système hématopoïétique [67].

C.2.1. Sièges de l'hématopoïèse :

Chez l'Homme, l'hématopoïèse commence dans le sac vitellin de l'embryon au cours des premières semaines du développement. 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 CSH migrent du sac vitellin vers le foie fœtal, 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 CSH a lieu dans la moelle osseuse qui devient le site majeur de l'hématopoïèse.

L'ontogénèse du système hématopoïétique chez l'humain est très proche du modèle de développement embryonnaire murin. (figure8)

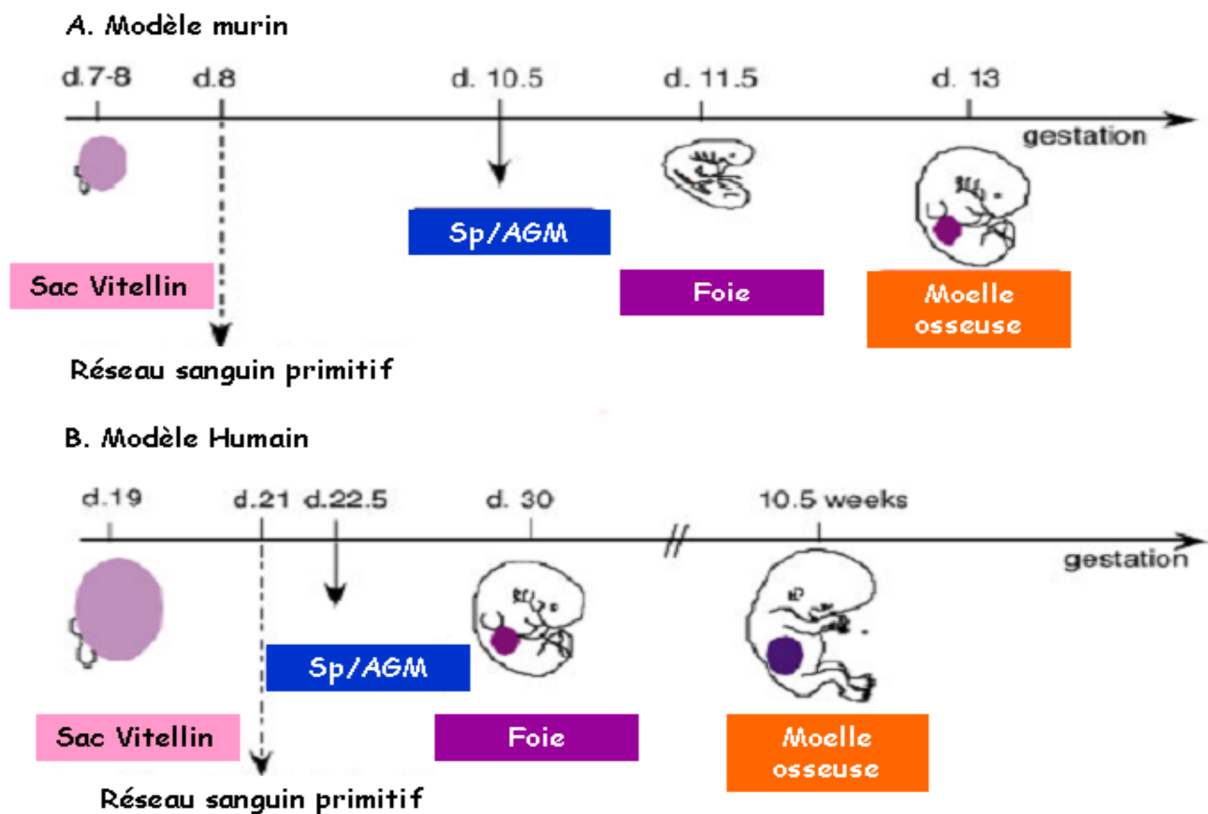


Figure 8 : Ontogénèse du système hématopoïétique dans les modèles murins (A) et humains (B) [165].

C.2.2. Les compartiments de l'hématopoïèse :

Toutes les cellules sanguines ou éléments figurés du sang, sont produits à partir d'une même cellule indifférenciée dite cellule souche multipotente ou cellule souche primitive. Sous l'influence de facteurs stimulants une cellule souche multipotente va s'engager dans la différenciation d'une lignée cellulaire. Elle devient alors un progéniteur (cellule souche différenciée ou " engagée ").

Après plusieurs divisions aboutissant à des cellules souches engagées à la potentialisation de différenciation de plus en plus limitée, les progéniteurs deviennent spécifiques d'une seule lignée. On aboutit alors aux précurseurs, cellules identifiables morphologiquement sur un prélèvement de moelle osseuse. Ces précurseurs se divisent ensuite et mûrissent. Ils correspondent à la majorité des cellules vues sur un étalement de moelle osseuse ou sur une biopsie ostéoméduillaire (BOM). La maturation terminale aboutit aux cellules matures fonctionnelles qui passent dans le sang. (figure9)

L'hématopoïèse comporte 4 compartiments:

- Le compartiment des cellules souches multipotentes.
- Le compartiment des progéniteurs.
- Le compartiment des précurseurs.
- Le compartiment des cellules matures.

➤ Les cellules souches hématopoïétiques :

Les cellules souches hématopoïétiques (CSH) sont des cellules souches adultes multipotentes. Elles ne représentent qu'un très faible pourcentage des cellules médullaires. Elles se caractérisent par :

- L'auto-renouvellement, permettant un maintien du pool de CSH tout au long de la vie ;
- La multipotence, leur conférant la possibilité de générer les différents types cellulaires hématopoïétiques ;
- La capacité de différenciation, permettant leur engagement vers une lignée hématopoïétique.

Le phénotype des CSH humaines est classiquement le suivant : CD34+Thy1+CD38-
HLA-DR-CD33-.

➤ **Les progéniteurs :**

Plus nombreux que les CSH, les progéniteurs restent cependant minoritaires et non identifiables sur un myélogramme (1 progéniteur pour 1000 cellules médullaires). Ces cellules perdent la capacité d'auto-renouvellement mais possèdent des capacités de prolifération importante. On distingue des progéniteurs immatures et les progéniteurs dits clonogéniques possédant la capacité à produire des colonies. Ils sont mis en évidence par des techniques de culture cellulaire en milieu semi-solide ou liquide en présence de facteurs de croissance. On classe alors les progéniteurs clonogéniques suivant le temps pour obtenir des colonies cellulaires, les types cellulaires qui composent les colonies, leur aspect et leur taille. On distingue classiquement grâce aux techniques de culture cellulaire :

- les LTC-IC (Long Term Culture Initiating Cells),
- les CFU-GEMM (Colony Forming unit – Granulocyte Erythrocyte Monocyte Megacaryocyte),
- les CFU-GM (Colony forming unit – Granulocyte Monocytes),
- les CFU-G et CFU-M,
- les BFU-E (Burst Forming Unit – Erythrocyte) et les CFU-E (Colony Forming Unit – Erythrocyte), les CFU-Meg (Colony Forming Unit – Megacaryocyte).

➤ **Les précurseurs :**

Les précurseurs sont des cellules identifiables sur un myélogramme car ils présentent des caractères morphologiques spécifiques de lignée. Ils ne sont pas capables d'auto-renouvellement. Ce sont des cellules différenciées en cours de maturation. Ces cellules sont capables d'un nombre limité de mitoses et sont normalement localisées dans la moelle osseuse. On distingue :

- ◆ Pour la lignée érythroïdes : les proérythroblastes, les érythroblastes basophiles, les érythroblastes polychromatophiles et les érythroblastes acidophiles.
- ◆ Pour la lignée mégacaryocytaire : les mégacaryoblastes, les mégacaryocytes basophiles, les mégacaryocytes granuleux et les mégacaryocytes matures.
- ◆ Pour la lignée granuleuse : les myéloblastes, les promyélocytes, les myélocytes et les métamyélocytes.
- ◆ Pour la lignée monocyttaire : les monoblastes et les promonocytes.

➤ **Les cellules matures :**

Les cellules matures du sang sont composées des polynucléaires granuleux (Neutrophiles, éosinophiles et basophiles), des lymphocytes et des monocytes. Les particules anucléées matures sont les réticulocytes, les hématies et les plaquettes. Une fois matures, ces éléments passent la barrière médullo-sanguine, composée essentiellement des cellules endothéliales des capillaires sanguins [69].

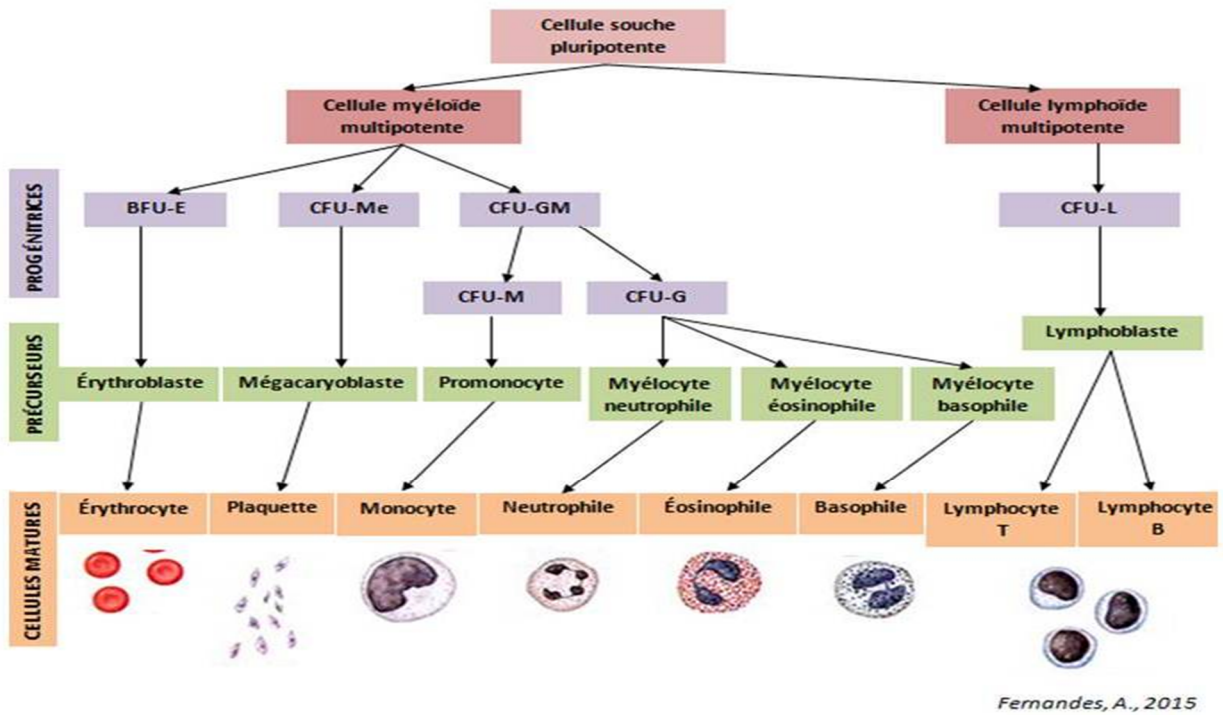


Figure 9 : Schéma illustratif simplifié de la différenciation hématopoïétique [55].

(BFU-E: Unité formatrice de blastes d'érythrocytes; CFU-Me: Unité formatrice de colonies mégacaryocytaire; CFU-GM: CFU granulo-monocytaire; CFU-M: CFU de monocytaire; CFU-G: CFU granulocytaire; CFU-L: CFU lymphocytaire) Toutes les cellules du sang sont produites par une petite population de cellules indifférenciées, les cellules souches pluripotentes, qui ont une grande capacité d'autorenouvellement et différenciation (fig. 1). Des facteurs stimulant font que ces cellules se différencient soit dans la lignée lymphoïde soit dans la lignée myéloïde. Autant les cellules lymphoïdes multipotentes que les cellules myéloïdes multipotentes se différencient en cellules progénitrices, les unités formatrices de colonies – CFU (*Colony-forming unit*) d'un type particulier de cellule. Les cellules progénitrices possèdent aussi une capacité d'autorenouvellement qu'elles perdent au long de la différenciation. Après plusieurs divisions, les cellules progénitrices originent de cellules précurseur spécifiques d'une unique lignée cellulaire et identifiable morphologiquement. Les cellules précurseurs se divisent encore et, après maturation et multiplication, elles aboutissent à la formation de cellules fonctionnelles qui passent dans le flux sanguin.

C.3 Facteurs de croissance hématopoïétique :

Ces facteurs de croissance sont produits par le micro-environnement médullaire mais aussi par les cellules hématopoïétiques elles-mêmes. Ce sont des facteurs solubles, d'origine cellulaire diverse. Certains de ces médiateurs agissent sur toutes les lignées hématopoïétiques, d'autres sont plus spécifiques d'un (EPO, GCSF) ou de plusieurs (GMCSF) lignage. Ils représentent in vivo un des mécanismes majeurs de régulation de l'hématopoïèse, induisant l'auto renouvellement et la différenciation des cellules par l'activation de récepteurs de surface spécifiques.

Globalement, ces facteurs de croissance peuvent être regroupés en quatre catégories : des facteurs maturants spécifiques d'une lignée cellulaire, des facteurs à spectre d'action plus large, des facteurs de croissance à action précoce et des facteurs inhibiteurs de l'hématopoïèse.

Parmi les facteurs maturants, on trouve, entre autres, l'érythropoïétine (Epo). Elle est synthétisée principalement par les cellules interstitielles du rein et agit spécifiquement en stimulant les précurseurs érythroïdes particulièrement en induisant la synthèse de globine. Un exemple de facteur de croissance à spectre d'action plus large est le GM-CSF. Il est produit par plusieurs types cellulaires tels que les lymphocytes T, les monocytes, les cellules endothéliales, les fibroblastes ou les ostéoblastes. Cette production peut être spontanée ou induite par le $TNF\alpha$, l'IL-1, ou l'irradiation. Le GM-CSF agit principalement sur la prolifération et la différenciation des lignées granulocytaires et macrophagiques, mais est aussi capable d'induire la différenciation des mégacaryocytes, des éosinophiles et, en présence d'érythropoïétine, des érythrocytes. Parmi les facteurs de croissance à action précoce, on trouve notamment le Stem Cell Factor, le Flt3-Ligand et la thrombopoïétine (TPO). Bien que la TPO fût initialement considérée comme un facteur agissant sur les cellules engagées vers une différenciation mégacaryocytaire, il a été récemment démontré qu'elle pouvait induire une prolifération des CSH. Le Flt3-Ligand, ses co-facteurs, ses rôles et ses implications seront développés dans une partie ultérieure.

Il existe également un certain nombre de facteurs capables d'inhiber l'hématopoïèse, par régulation de l'auto-renouvellement, de la prolifération et de la différenciation des CSH. Ils peuvent agir directement sur les CSH ou indirectement en modulant la sécrétion de facteurs de croissance par d'autres populations cellulaires. Parmi ces facteurs inhibiteurs on trouve, entre autres, les prostaglandines (PG de type E) et certaines cytokines telles que le $TNF\alpha$, les interférons et le $TGF-\beta$ (Transforming GrowthFactor- β).

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

➤ **Les facteurs multipotents :**

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

➤ **Les facteurs de promotion :**

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

➤ **Les facteurs restreints :**

Ils agissent sur les cellules souches déjà engagées en favorisant la multiplication cellulaire et la maturation des précurseurs. Ce sont le G-CSF, le M-CSF, l'IL 4, l'IL 5, l'IL 6, l'EPO et la TPO [70].

C.4. Caractérisation des CSH :

La population CSH n'est pas identifiable morphologiquement. Plusieurs études se sont penchées sur l'identification de marqueurs définissant le phénotype des CSH et permettant ainsi leur isolation.

Pour identifier les CSH, la meilleure méthode est de mettre en évidence leur efficacité *in vivo*. Il est également possible d'utiliser des marqueurs cellulaires. Un des marqueurs des CSH est le CD34 (*cluster differentiation 34*). L'expression de l'antigène CD34 correspond à une population de cellules morphologiquement et immunologiquement hétérogènes mais qui sont caractérisées par leur capacité *in vitro* de générer des agrégats de clones et leur capacité *in vivo* de reconstituer le système myélo-lymphopoïétique chez un hôte mortellement irradié.

Les CSH sont également définies par l'absence d'expression de CD38 (CD38-) [71]. Le marqueur KDR (*knock down resistance*) s'est révélé comme essentiel pour mieux caractériser les CSH dans la population de cellules CD34⁺. Elles semblent peu exprimer THY-1, exprimer KIT et SCA-1, mais pas de marqueurs spécifiques de lignage (LIN-) [72].

Partie 2 :
Les greffes des cellules
souches hématopoïétiques



A. GREFFE ALLOGENIQUE

A.1 Généralités :

Le vocabulaire de la greffe est truffé d'abréviations et de termes spécialisés (GCS, GCSSP, GCSH, greffe de moelle osseuse, greffe de cellules souches du sang périphérique, greffe de cellules sanguines). Un coup d'œil à l'histoire de ce traitement permet de comprendre pourquoi autant de termes différents sont utilisés. La ponction directe à partir de la moelle osseuse a été la première façon d'obtenir des cellules souches hématopoïétiques ; on a donc d'abord parlé de greffe de moelle osseuse, ou GMO. La découverte dans le sang périphérique de cellules souches hématopoïétiques similaires à celles qui étaient prélevées dans la moelle osseuse a donné lieu au terme « greffe de cellules souches du sang périphérique » (ou GCSSP). À l'heure actuelle, les cellules souches sont principalement puisées dans le sang périphérique. En France, par exemple, Depuis 2004, la source principale de greffons allogéniques est le sang périphérique (56,8% en 2012). (Figure 10)

Comme les cellules souches peuvent provenir du sang périphérique, de la moelle osseuse ou même du placenta (greffe de cellules du sang de cordon ombilical), on a créé le terme le plus général de greffe de cellules souches hématopoïétiques(CSH).

Parmi les greffes de CSH, on distingue les greffes autologues des greffes allogéniques. Les greffes autologues prédominent dans le traitement des lymphomes et des tumeurs solides. Elles consistent à administrer au patient ses propres cellules souches recueillies surtout au niveau du sang périphériques par cytophérèse et purgées de leurs cellules leucémiques. A l'inverse, les greffes allogéniques de CSH consistent à administrer les cellules souches hématopoïétiques d'un donneur apparenté ou non chez un receveur.

L'allogreffe de(CSH) constitue la seule alternative thérapeutique curative pour certaines hémopathies malignes, les déficits immunitaires primitifs sévères et certaines maladies héréditaires touchant l'hématopoïèse [73].Sa réalisation implique une triade constituée par un greffon(la source des CSH, prélevée chez le donneur) ;Un receveur (le malade) et un donneur qui doit être une personne volontaire, saine, et compatible avec le

receveur au niveau du système des antigènes majeurs d'histocompatibilité HLA. Le nombre d'allogreffes pratiqué augmente de façon continue en France et dans le monde entier. Cette croissance est en rapport avec une amélioration de la survie en lien avec une évolution de la procédure permettant aux patients de plus en plus âgés d'en bénéficier. Approximativement 50000 personnes subissant une greffe de CSH chaque année dans le monde [74].

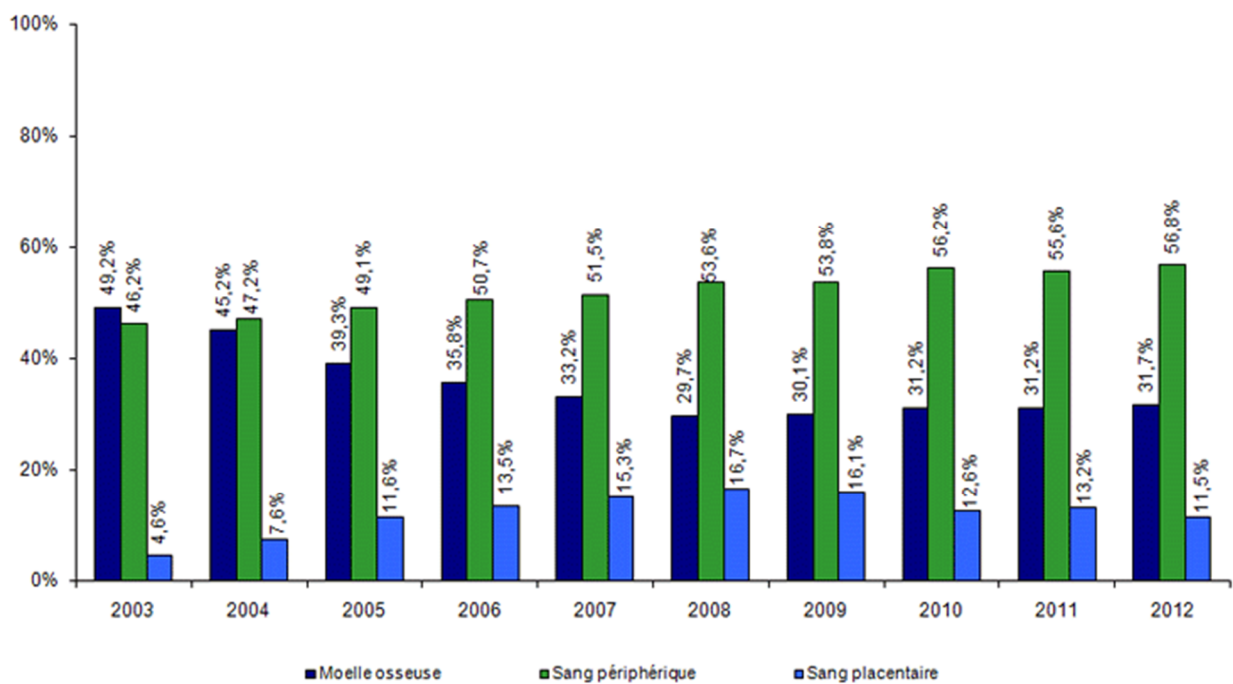


Figure10 : Evolution de la répartition des sources de greffon des CSH allogéniques. [82]

A.2. Définitions :

La décision de recourir à une allogreffe dépend de la maladie sous-jacente, de l'âge et des comorbidités du patient ainsi que de la disponibilité d'un donneur compatible. Le degré de compatibilité est établi dans le système HLA, en comparant les haplotypes du receveur avec celui de son donneur. En effet seuls les vrais jumeaux ont des systèmes HLA entièrement identiques. En raison de sa complexité et du très grand nombre de combinaisons possibles, la chance statistique de trouver un donneur identique dans ce système en dehors de la famille est très faible.

Les cellules sont prélevées chez le donneur, soit au niveau de la moelle osseuse, soit au niveau du sang périphérique. Une autre possibilité consiste à utiliser des cellules provenant d'un sang de cordon ombilical prélevé lors d'une naissance et congelé dans une banque de sang de cordon.

La sélection du donneur est donc capitale dans la réussite d'une greffe de CSH. On peut définir :

✚ Les donneurs apparentés :

- ❖ **Géno-identiques** : Le donneur est ici un frère ou une sœur du malade qui porte les mêmes antigènes HLA.
- ❖ **Haplo-identiques** : Si aucun donneur familial géno-identique ou non apparenté n'est compatible, il est possible d'envisager des greffes à partir d'un donneur familial non géno-identique (Parents par exemple) On parle alors de greffe haplo-identique car ses antigènes HLA sont partiellement identiques.

✚ Les donneurs non apparentés :

- ❖ **Phéno-identique** : Le donneur non issu de la famille, mais un volontaire sain, inscrit sur un fichier de donneurs qui partage avec le patient les mêmes antigènes d'histocompatibilité. Et on utilise dans ce cas soit des CSP, soit des CSH issues de sang périphériques.

Avant la greffe, le receveur doit subir un conditionnement afin de supprimer son immunité et de prévenir le rejet du greffon. Le choix du conditionnement est fait en fonction de l'âge du patient, de ces antécédents, du type de maladie, de son stade, des facteurs prédictif de la maladie. Il sera en général de forte intensité chez les patients jeunes ou ayant une maladie non contrôlée, et de faible intensité chez des patients âgés ou avec des comorbidités.

Il existe deux grands types de conditionnement en allogreffe de CSH : le conditionnement myéloablatif et le conditionnement d'intensité réduite [75 ,76].

Le conditionnement myéloablatif :

Le conditionnement dit myéloablatif conventionnel consiste à détruire, dans un premier temps, les cellules tumorales du receveur par une chimiothérapie et/ou une radiothérapie à forte intensité avant d'injecter les cellules souches saines d'un donneur. On a donc un effet myéloablatif et immunosuppresseur. La toxicité de ce type de conditionnement est importante (mucite, aplasie prolongée, maladie veino-occlusive...) rendant ce traitement inadapté aux personnes de plus de 50 à 55 ans et/ou ayant des comorbidités.

Le conditionnement non myéloablatif :

Il a été développé à partir des années 1990, afin de rendre l'allogreffe accessible aux patients âgés ou ayant des comorbidités. C'est un conditionnement d'intensité faible pour lequel la myélotoxicité est pratiquement nulle. Le but est l'installation du greffon sans toxicité. Il s'accompagne d'une mortalité non liée à la rechute faible [77], cependant l'incidence de rechute est élevée. Actuellement, ce type de conditionnement est délaissé au profit des conditionnements d'intensité réduite, pour lesquelles l'incidence de rechute est plus faible sans accroissement de la toxicité. [78]

Le conditionnement d'intensité réduite :

C'est un conditionnement d'intensité intermédiaire. Comme pour les conditionnements non myéloablatifs, le principe de ces conditionnements repose sur l'immunomodulation afin de permettre la prise de greffe et l'éradication de la maladie et non sur la myélosuppression comme pour les conditionnements myéloablatifs. Cependant, contrairement aux

conditionnements non myéloablatifs, les conditionnements d'intensité réduite entraînent des cytopénies longues rendant nécessaire le support d'un greffon pour permettre une sortie d'aplasie dans un délai raisonnable[79]. Ces conditionnements, grâce à leur faible toxicité, rendent possibles des allogreffes chez des patients âgés ou ayant des comorbidités[80]. Actuellement les conditionnements d'intensité réduite représentent la majorité des conditionnements d'allogreffe réalisée[81].

Après le conditionnement, le greffon prélevé chez un donneur est administré, par voie veineuse au receveur.

A.3. Principales indications :

Initialement réservées aux leucémies aiguës et aplasies médullaires, les indications de l'allogreffe des CSH se sont peu à peu élargies à d'autres hémopathies malignes telles que les syndromes myélodysplasiques, certains syndromes myéloprolifératifs, les hémopathies lymphoïdes (lymphome, myélome, leucémie lymphoïde chronique...), des pathologies non malignes telles que les hémoglobinopathies (thalassémie β majeure, drépanocytose), le déficit immunitaire congénital sévère, certaines maladies métaboliques (Maladie de Krabbe).

Les leucémies aiguës myéloblastiques (LAM) et lymphoblastiques (LAL) sont les principales indications, suivies par les syndromes myélodysplasiques (SMD), les aplasies médullaires (AM) et les hémopathies lymphoïdes telles que les lymphomes Hodgkiniens (LH) et non Hodgkiniens (LNH) et les myélomes (MM) dans une moindre mesure (figure 13 et 14) [84]. Ces indications dépendent de l'âge et des co-morbidités du patient et de la disponibilité d'un greffon. En France, Les indications d'allogreffe sont identiques, que le donneur soit apparenté ou non.(Figure 11 et 12).

Les indications évoluent en fonction des évaluations de l'efficacité et de la toxicité de l'allogreffe, de l'arrivée de nouvelles thérapeutiques ciblées et du progrès de la biologie (en particulier la cytogénétique, la biologie moléculaire et la cytométrie en flux).

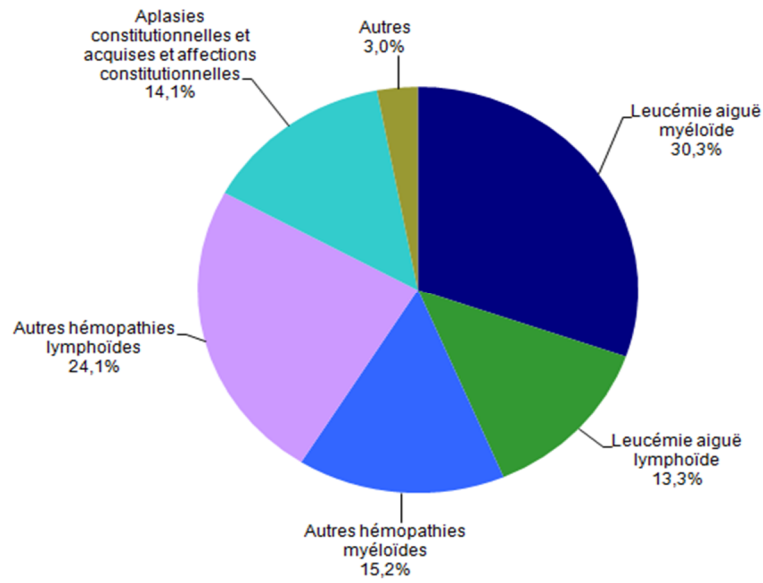


Figure11 : Répartition des indications en 2012 des allogreffes apparentées (n=669 patients). [82]

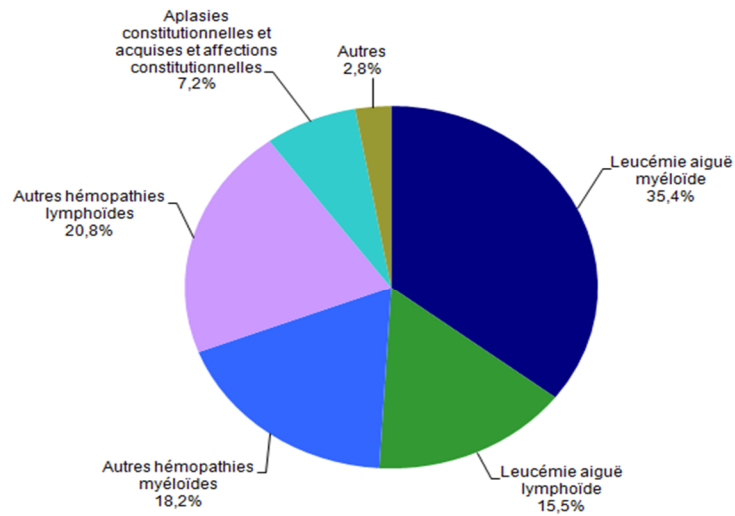


Figure12: Répartition des indications en 2012 des allogreffes non apparentées (n=856 patients). [82]

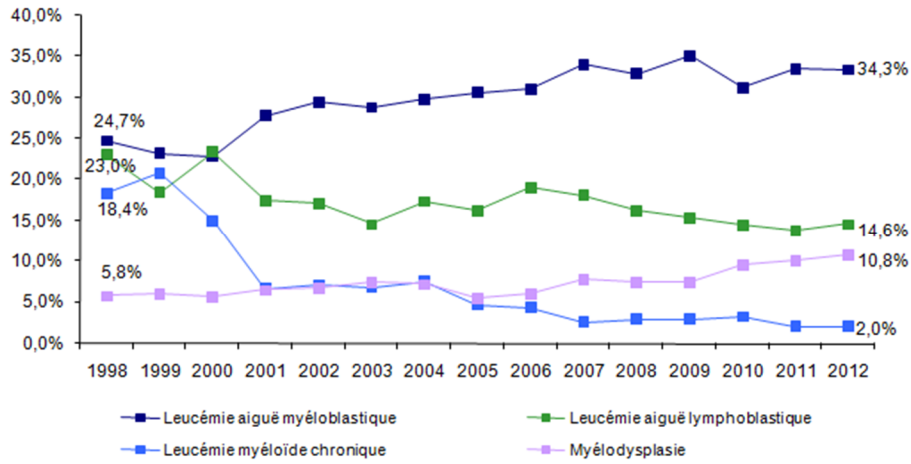


Figure 13 : Evolution de la répartition des indications d'allogreffe. [82]

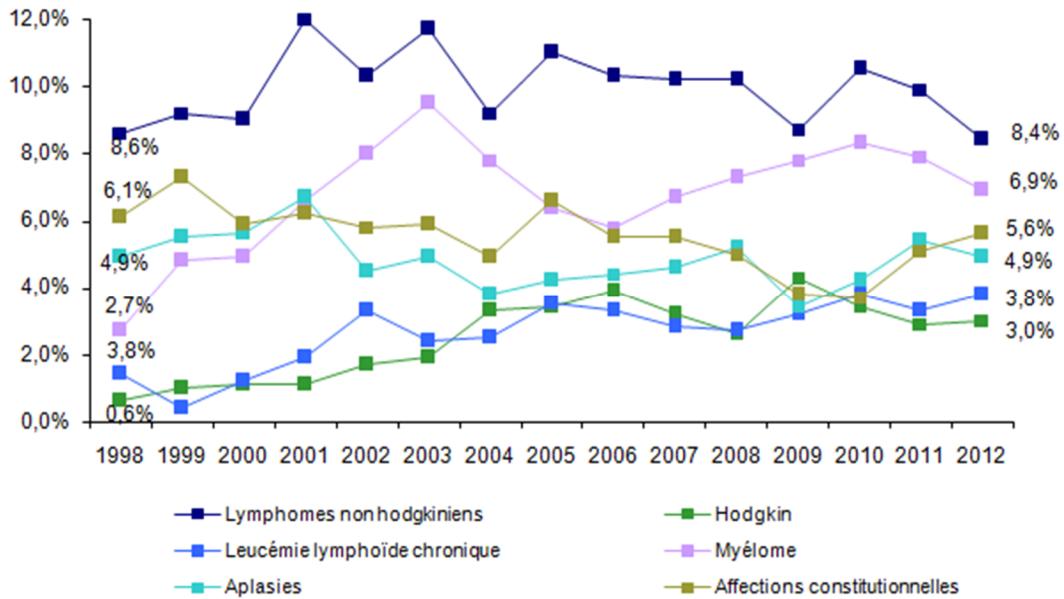


Figure 14 : Evolution de la répartition des indications d'allogreffe. [82]

A.4. Avantages et inconvénients des allogreffes :

L'allogreffe a l'avantage que les cellules souches greffées sont saines et développent un effet immunitaire GVL (réaction du greffon contre la maladie); Comme le greffon provient d'un donneur différent du receveur, ils possèdent entre autre des lymphocytes T qui sont capables d'éliminer les cellules tumorales. Ce mécanisme GVL n'est possible que dans le cas des allogreffes. Cet effet peut encore être renforcé par la transfusion de lymphocytes T du donneur, approche pouvant aboutir dans certains cas à une nouvelle rémission complète si la maladie a rechuté malgré la greffe. Mais dans ce cas, il faut tenir compte du fait que le risque de GVH aiguë n'est pas négligeable.

Après la greffe, le nouveau système immunitaire va se développer plus ou moins rapidement et c'est l'effet recherché .Cependant l'organisme du patient peut ne pas accepter le greffon et le rejeter .Si le rejet est complet, une deuxième greffe peut alors éventuellement être tentée avec des modalités différentes. Plus fréquemment, une activation importante du système immunitaire du donneur peut se développer.

Il peut alors s'attaquer à des cellules normales de l'organisme du patient. C'est ce que l'on appelle la (réaction du greffon contre l'hôte) ou GVHD. Elle est due à une compatibilité imparfaite entre receveur et donneur. Cette réaction est plus fréquente que le rejet. Parmi les inconvénients de cette procédure allogénique sont comme pour l'autogreffe la toxicité liée au conditionnement myéloablatif, alors que peu d'effets indésirables graves sont observés avec les conditionnements non-myéloablatifs.

En résumé, bien qu'une greffe allogénique comporte effectivement des risques en termes d'effets secondaires et de complications, elle offre davantage de chances de guérison. C'est pourquoi, elle est souvent privilégiée.

B. LES GREFFONS DES CELLULES SOUCHES HEMATOPOÏÉTIQUES :

Les cellules souches hématopoïétiques sont présentes à l'état naturel dans le sang placentaire à la naissance et dans moelle osseuse tout au long de la vie. Elles peuvent donc être prélevées dans ces deux sites par ponction ou par aspiration. Elles peuvent également être mobilisées de la moelle osseuse pour être entraînées vers le sang périphérique où elles seront prélevées par cytophérèse. Dans la moelle osseuse et le sang périphérique, les cellules souches hématopoïétiques peuvent être prélevées à partir d'un donneur sain dans le but de réaliser une allogreffe à un receveur. Les modalités de prélèvement ou les manipulations des greffons dépendent également de la source de cellules souches hématopoïétiques choisie.

Les modalités de prélèvement des CSH dans leur site naturel (moelle osseuse ou sang placentaire) ou dans le sang périphérique après stimulation sont bien définies et encadrées, pour à la fois assurer la sécurité du donneur et permettre une greffe hématopoïétique de qualité. La sécurité du donneur familial ou non apparenté doit être assurée pendant le prélèvement mais également à moyen et long terme. La richesse d'un greffon et sa caractérisation dépendent du site de prélèvement des CSH et de la technique utilisée. La connaissance des conditions qui influencent cette richesse permet à la fois d'optimiser la collecte des greffons tout en évitant des conditions dans lesquelles la sécurité du donneur pourrait être remise en question.

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

Les CSH de la moelle osseuse sont prélevées selon deux modalités distinctes : directement dans la moelle osseuse, par ponction intra-osseuse, ou dans le sang périphérique, par cytophérèse, après avoir administré au donneur un traitement pour qu'elles passent de la moelle dans le sang. Le choix entre les deux types de prélèvement est laissé au donneur, en l'absence de contre-indication à l'une ou l'autre de ces deux méthodes.

B.1.1. Modalités de prélèvement :

B.1.1.1. Moelle osseuse :

Le prélèvement de moelle osseuse n'est pratiquement plus utilisé pour réaliser des autogreffes de cellules souches hématopoïétiques, où il a été remplacé par le prélèvement de cellules souches hématopoïétiques dans le sang périphérique (par cytophérèse) [83]. Cependant le prélèvement de moelle osseuse chez un donneur d'allogreffe hématopoïétique, que ce soit un donneur familial ou non apparenté, obéit à des règles et des conditions de réalisation précises. L'allogreffe est réalisée une fois que le donneur a été sélectionné et que son aptitude a été validée par les hématologues et les anesthésistes. La date de prélèvement coïncide généralement avec la date de greffe. Cela permet de ne pas avoir à congeler les greffons et à ne pas perdre des cellules souches hématopoïétiques lors du procédé de congélation/décongélation. Le prélèvement de moelle osseuse est réalisé au bloc opératoire au niveau des crêtes iliaques postérieures. Il est réalisé à l'aide de trocarts adaptés constitués de plusieurs orifices latéraux pour aspirer la moelle osseuse en différents endroits. Chaque aspiration ramène 5 à 10 ml de moelle osseuse et, pour permettre un prélèvement efficace, l'opérateur doit changer la position du trocart avant chaque aspiration.

En pratique, durant le prélèvement de moelle osseuse la numération du nombre de cellules nucléées totales (CNT) collectées, associée au volume prélevé et l'utilisation d'abaques permettent d'apprécier le volume total de moelle osseuse à prélever. Le volume présent dans chaque seringue est déposé dans une poche adaptée contenant un mélange sérum salé isotonique/anticoagulants. Le volume total de moelle collecté varie de 400 à plus de 1200 ml. Le volume total qui peut être prélevé dépend du poids du donneur (10 ml/kg et ne peut pas dépasser 20 ml/kg). La quantité de cellules nécessaires pour réaliser une allogreffe de moelle osseuse est 2 à 3×10⁸ CNT/kg [84]. Ce mode de prélèvement permet de recueillir à la fois les cellules souches de la moelle osseuse et leur milieu environnant. La moelle collectée est ensuite filtrée, pour éliminer les particules osseuses et graisseuses.

Le prélèvement de la moelle osseuse peut avoir lieu en d'autres sites. Au niveau du sternum chez les adultes et les enfants âgés plus de 15 ans. Mais cette voie ne représente que 5 à 7% des ponctions du fait de la proximité cardiaque et d'une angoisse plus importante du patient. [85]. Chez les nourrissons, moins de 18 mois, le prélèvement se fait à partir du tibia.

Lors des greffes allogéniques, pour améliorer le confort du donneur, on lui propose une autotransfusion : deux semaines avant le don de moelle, un prélèvement de sang est réalisé sur le donneur (300 à 400 ml) ; la poche est ensuite conservée et transfusée à ce même donneur juste après le prélèvement de moelle afin de compenser la perte sanguine.

Les cellules souches peuvent être traitées avant l'administration si indiqué : en cas d'incompatibilité ABO mineure, une déplasmatisation du greffon est nécessaire pour éliminer les anticorps anti-A et/ou anti-B ; et en cas d'incompatibilité majeure, une désérythrocytation du greffon est réalisée pour éliminer les érythrocytes A et/ou B. Enfin, une déplétion en cellules T peut être réalisée pour diminuer le risque de GVH, notamment dans les greffes haplo-identiques [86].

B.1.1.2. Cellules souches périphériques :

L'utilisation des CSP a remplacé les greffons médullaires dans le domaine de l'autogreffe. En revanche, l'allogreffe de CSP se heurte à deux problèmes principaux : d'une part, la nécessité d'injecter à un sujet sain du G-CSF recombinant pour mobiliser les CSH, et d'autre part, un risque théoriquement plus élevé de GvH qu'après greffe de moelle. En effet, un greffon de CSP contient en moyenne quatre fois plus de cellules CD34+ et dix fois plus de lymphocytes T qu'un greffon médullaire.

Le prélèvement de cellules souches hématopoïétiques périphériques chez les donneurs sains effectués pour réaliser une allogreffe familiale ou non apparentée est réalisé après vérification de l'absence d'affections transmissibles et de contre-indications à l'utilisation de facteurs de croissance hématopoïétique ou de réalisation de cytophérèse. Le nombre de CSH circulantes étant spontanément faible, il est nécessaire de réaliser auparavant une mobilisation des cellules hématopoïétiques médullaires d'où l'intérêt de la prescription de facteurs de croissance, par exemple, du granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) (G-CSF 10 g/kg par jour par voie sous-cutanée) pendant cinq jours, suivie de la collecte des cellules souches hématopoïétiques périphériques par cytophérèse.

Plusieurs cytophèreses sont parfois nécessaires pour recueillir le nombre de cellules permettant une reconstitution hématopoïétique optimale.

Les collectes sont réalisées au moment où il y a suffisamment de cellules souches hématopoïétiques périphériques disponibles : chez le patient, un dosage de cellules CD34+ dans le sang vérifiera que la cytophèrese peut être débutée, alors que le donneur sain sera systématiquement prélevé quatre à cinq jours après le début de la stimulation par G-CSF.

La cytophèrese est basée sur le principe que les cellules sanguines n'ont pas le même poids et pourront donc être séparées par centrifugation (compte tenu des différences de taille, de poids et des propriétés de sédimentation) avec une couche de globules rouges, une couche de globules blancs et une couche de plaquettes. Le sang du donneur va suivre une circulation dite extra corporelle, en dehors de son corps, dans un kit stérile à usage unique. Il partira d'un bras, habituellement à partir d'une aiguille posée à la plie du coude pour se retrouver dans la poche qui sera centrifugée et donc les éléments sanguins seront séparés et c'est à ce niveau qu'un capteur viendra prendre la couche de globule blanc qui contient les cellules souches hématopoïétiques. Le reste du sang reviendra par l'autre bras.

Le réglage continu des paramètres de la machine d'aphèrese (vitesse des pompes) associé à la vérification de paramètres visuels permettent de prélever la bonne couche et d'optimiser le prélèvement. Les couches cellulaires bordant la couche d'intérêt peuvent être partiellement prélevées, ce qui modifie dans la composition du greffon et peut induire certains effets secondaires. Dans les conditions habituelles, un volume de 200 ml de sang périphérique concentré en cellules souches hématopoïétiques est souvent prélevé. Le nombre de cellules souches hématopoïétiques nécessaires pour réaliser une allogreffe est généralement de $4 \text{ à } 8 \times 10^6 \text{ CD34+}/\text{kg}$. Il n'existe pas de consensus sur les quantités optimales à prélever.

Le donneur ne recevra aucun médicament, sauf un qui est du calcium sur la voie de retour, car dans le circuit, il faut un anticoagulant (citrate) pour éviter que le circuit ne se bouche pas. Il y a toujours un peu de citrate qui revient vers le donneur, sans danger puisqu'il ne peut pas entraîner de saignement mais il peut faire baisser le calcium sanguin et le donneur pourrait avoir des sensations un peu désagréables de fourmillements des extrémités ce que l'on appelle la spasmophilie ou la tétanie. Pour éviter cela il recevra par la voie de retour du calcium, encore une fois le seul médicament qui lui sera dispensé.

Des cytopénies transitoires ont été rapportées dans les jours qui suivent le don, et plus rarement des cas de neutropénies. Des thrombopénies sont plus fréquemment observées et peuvent nécessiter une transfusion de plasma. Les expériences d'un second don de CSP chez un même donneur ont montrées que les réserves en progéniteurs cellulaires n'étaient pas altérées [87,88].

B.1.2. Composition cellulaire du greffon, son traitement, sa conservation et influence sur les greffes hématopoïétiques :

Le greffon comprend différents types cellulaires : les cellules nucléées totales (CNT), les globules rouges et les plaquettes. Parmi les cellules nucléées totales, il y a les cellules souches qui permettent la prise de greffe.

✚ Composition du greffon :

➤ Cellules nucléées totales :

Les cellules nucléées totales (CNT) correspondent aux leucocytes et aux érythroblastes. La numération des cellules nucléées : réalisée par une technique automatique (hémogramme) et par une technique manuelle sur cellule de Malassez.

➤ Cellules souches hématopoïétiques :

Au cours du développement, les CSH naissent au niveau de la splanchnopleure para aortique, puis colonisent le foie fœtal et finalement s'établissent au niveau de la moelle osseuse. Les CSH sont des cellules souches multipotentes, donc capables de reconstituer un type tissulaire dans son ensemble. Elles possèdent des propriétés d'auto renouvellement, de prolifération, et ont la capacité de se différencier en tous les éléments figurés du sang.

◆ Isolement de la CSH directement :

Pour la greffe, il est nécessaire de quantifier rapidement et directement le nombre de CSH juste avant la greffe et non de manière différée avec des évaluations rétrospectives (CFU, LTC-IC, LT-RC). Pour quantifier directement les CSH, on peut quantifier en cytométrie le nombre de cellules porteuses de certains antigènes de surface reflétant le phénotype cellulaire.

Chez l'homme les CSH sont CD45+ CD34+ CD38- .

➤ **CD34+** :

L'antigène CD34+ est une protéine transmembranaire de type I, fortement glycosylée, qui est membre de la famille des sialomucines . Il existe différentes formes de CD34+ plus ou moins glycosylées. CD34+ est exprimé sur les CSH, sur les progéniteurs hématopoïétiques et sur les cellules endothéliales des petits vaisseaux. L'expression de l'ARNm de CD34+ est détectée au niveau du foie, de la rate, de la moelle osseuse et du thymus et aussi au niveau du cœur, des poumons, des muscles squelettiques, des reins et du cerveau fœtal et adulte. Il existe 3 classes d'anticorps anti-CD34 classés selon leur capacité à reconnaître le CD34 après traitement enzymatique : neuraminidase, chymopapaine, O glycoprotéase. La classe I est totalement ou partiellement sensible à la neuraminidase et aussi sensible aux glycoprotéases, la classe II est sensible uniquement aux glycoprotéases et la classe III est insensible aux 3 enzymes.

Les rôles du CD34 ne sont pas clairement élucidés, mais on pense que c'est un marqueur impliqué dans l'adhésion cellulaire et la différenciation hématopoïétique :

◆ **Adhésion :**

CD34 serait impliqué dans l'adhésion des CSH au stroma médullaire. En effet, comme le sont classiquement les molécules d'adhésion, le CD34 est une sialomucine de surface fortement glycosylée. De plus, les cellules CD34 injectées en intra veineux sont capables de se domicilier dans la niche hématopoïétique. On pense, que les différents niveaux de glycosylation de la molécule CD34 influencent la localisation des CSH et des progéniteurs hématopoïétiques.

◆ **Différenciation hématopoïétique :**

CD34 serait également impliqué dans la différenciation hématopoïétique, en maintenant les cellules dans un stade d'immaturité. La forme complète de CD34 est associée à un blocage au stade immature, alors que la forme tronquée de CD34 n'inhibe pas la différenciation.

❖ Applications cliniques du CD34 :

- Diagnostic et sous classification des leucémies :

Environ 40% des leucémies aiguës myéloïdes expriment le CD34. Notamment toutes les LAM avec translocation expriment le CD34. Cependant, le CD34 est à la fois retrouvé dans des leucémies de bon et de mauvais pronostic, ainsi il ne peut être considéré comme un facteur pronostique indépendant.

- Utilisation du CD34 pour quantifier les progéniteurs hématopoïétique et les CSH
L'utilisation d'anticorps anti CD34 en cytométrie en flux a permis de réaliser des contrôles qualités sur les greffons. On peut, notamment, contrôler la persistance de CD34 après les manipulations sur le greffon. La méthode d'évaluation des CD34 en cytométrie fait l'objet d'un consensus international.

❖ Contenu en CD34+ des greffons :

La médiane de CD34+ dans un greffon médullaire est de 2 à 3x10⁶ /kg de receveur. La médiane de CD34+ dans un greffon de CSP est de 8x10⁶ /kg de receveur.

🚦 Contenu cellulaire du greffon, son traitement, sa conversation, son influence sur les greffes hématopoïétiques :

La moelle osseuse a été la première source de cellules souches hématopoïétiques. La richesse d'un greffon de moelle osseuse est caractérisée par le nombre de CNT qui correspond à l'ensemble des cellules présentes sans les globules rouges. La moelle osseuse contient une grande quantité de globules rouges et les compatibilités ou incompatibilités ABO entre donneur et receveur doivent être évaluées pour éviter une hémolyse chez le receveur greffé. Il est important de procéder soit à une déplasmatisation (en cas d'anticorps hémolysant chez le donneur) ou une désérythrocytation (en cas de présence de globules rouges pouvant être hémolysés) du greffon pour éviter une hémolyse. Le greffon contient peu de lymphocytes T.

La richesse d'un greffon de cellules souches hématopoïétiques périphériques est caractérisée par le nombre de cellules CD34+. La numération des cellules CD34+ est réalisée par des techniques de cytométrie en flux. Un greffon de cellules souches hématopoïétiques périphériques contient moins de globules rouges qu'un greffon de moelle osseuse. En cas d'incompatibilité ABO entre donneur et receveur, une déplasmatisation peut être réalisée sur le greffon, alors qu'une désérythrocytation est plus difficilement réalisable sur le plan

technique. En revanche, la désérythrocytation peut être remplacée par la réalisation d'un prélèvement de cellules souches hématopoïétiques périphériques pauvre en globules rouges lors de la cytophérèse. Un greffon de cellules souches hématopoïétiques périphériques contient dix fois plus de lymphocytes qu'un greffon médullaire. Cette caractéristique entraîne des taux de maladie du greffon contre l'hôte chronique plus élevés après allogreffes de cellules souches hématopoïétiques périphériques qu'après allogreffes de moelle osseuse.

Quel que soit le type de greffon et le moyen de caractériser sa richesse, il faut également évaluer la viabilité des cellules totales nucléées et des cellules souches hématopoïétiques (par exclusion des cellules mortes avec technique de numération au bleu trypan ou marquage au 7AAD). L'évaluation de cette viabilité est particulièrement importante après prélèvement dans des pays étrangers avec un temps de voyage important ou lorsque les cellules souches hématopoïétiques doivent être congelées et cryopréservées.

Le cas le plus fréquent en greffe allogénique est l'utilisation des cellules souches à l'état frais.

B.1.3. Don des CSH de moelle osseuse et de CSP :

Le receveur d'allogreffe de cellules souches doit être jumelé à un donneur. Les caractéristiques du donneur et la source des cellules souches seront déterminées par le médecin. Il est important que vous compreniez ce qui justifie le choix d'un donneur ou d'une source en particulier. Souvent, le donneur est un frère, une sœur ou un autre membre de la famille du patient. Lorsqu'un jumeau identique est le donneur, il y a compatibilité parfaite, et on parle d'isogreffe ou greffe syngénique. Lorsqu'il n'existe pas de donneur apparenté, on entreprend la recherche d'un donneur non apparenté.

Il existe un certain nombre de registres de donneurs et de sources de sang de cordon ombilical dans le monde. La probabilité de trouver un donneur non apparenté dans la population générale dépend des caractéristiques uniques du receveur. Grâce à l'exactitude accrue des analyses de laboratoire, il est de plus en plus facile de trouver des donneurs compatibles.

Le choix des candidats au don est souvent source de préoccupation. Les donneurs prêts à donner des cellules souches peuvent communiquer avec un centre local de don ou s'inscrire à l'un des grands registres. Plusieurs critères entrent en ligne de compte pour devenir un donneur : l'état de santé général, le poids et l'âge, entre. Les personnes peu susceptibles de pouvoir donner des cellules souches sont, entre autres, celles qui ont des antécédents de troubles cardiaques graves, qui sont atteintes de cancer, d'une hépatite, de diabète insulino-dépendant ou qui sont infectées par le virus d'immunodéficience humaine (VIH).

Deux facteurs sont importants dans la recherche d'un donneur. Le premier est le typage HLA [antigènes leucocytaires humains].

Le second facteur important dans la recherche d'un donneur non apparenté sera la mesure dans laquelle votre groupe ethnique ou racial est représenté dans les registres. Comme les types de tissus et d'antigènes sont héréditaires, et que certains sont exclusifs à certaines races ou ethnies.

D'ambitieux efforts sont déployés pour inciter les membres de groupes minoritaires à s'inscrire dans les registres.

B.2. Greffons issus de sang de cordon :

Dans le mois précédent la naissance, le cordon ombilical achemine chaque jour vers le fœtus plus de 300 litres de sang puisant l'oxygène et les nutriments à travers le placenta. Ce cordon, attaché au placenta, est le lien vital entre le fœtus et sa mère. Il contient deux artères et une veine dans lesquelles circule le sang du cordon ombilical, appelé encore sang placentaire.

Les CSH du sang de cordon sont prélevées, avant la délivrance, à partir du sang résiduel dans le cordon ombilical, par ponction de la veine ombilicale. Les conditions dans lesquelles se déroule le travail lors de l'accouchement, la durée de gestation, l'origine ethnique, le poids et le sexe de l'enfant influent sur la quantité de cellules recueillies. Le nombre de cellules recueillies est d'autant plus élevé que la durée de gestation est prolongée, le poids du nouveau-né élevé. Il augmente également lorsque la délivrance est faite par voie basse et que

le sang de cordon est prélevé avant la délivrance placentaire [89,90]. Ce prélèvement ne porte préjudice ni à la mère, ni à l'enfant, dans la mesure où la fonction des CSH circulant dans le cordon ombilical reste à ce jour inconnue.

Depuis 1988, année de la première greffe de sang placentaire réalisée avec succès, le nombre de greffe de sang de cordon n'a cessé d'augmenter dans le monde, pour dépasser en 2006 celui du nombre de greffe de CSH issues de moelle osseuse ou de sang périphérique. En 20 ans, 20000 unités de sang placentaire (USP) ont ainsi été greffées dans le monde [91].

La première greffe de sang de cordon réussie, est réalisée sur un enfant de cinq ans atteint d'anémie de Fanconi par le professeur Eliane Gluckman et son équipe à l'hôpital Saint-Louis de Paris. Il s'agissait d'une greffe allogénique intrafamiliale, le donneur étant sa petite sœur dont le groupe HLA était identique. Cette expérience fut suivie d'une série d'études définissant les critères d'exigence. Elle a validé la greffe de sang placentaire intrafamiliale allogénique et non apparentée comme une alternative aux greffes de moelle osseuse et de cellules souches périphériques. Cette démonstration conduisit, à créer des banques de sang non apparentées publiques placées sous la triple égide de l'Etablissement Français du Sang (EFS), de l'Etablissement Français des Greffes (EFG) et de l'Agence de la Biomédecine.

B.2.1. Modalités de prélèvement :

Le sang placentaire est devenu une source majeure de CSH pour les greffes allogéniques, à la fois chez l'adulte et chez l'enfant.

Le prélèvement de sang de cordon ombilical est un don anonyme, bénévole et gratuit. Il est réalisé, uniquement dans les maternités conventionnées avec les banques de sang de cordon, par un personnel formé et entraîné afin d'obtenir des USP de bonne qualité. Il nécessite l'absence de risques pour la mère et le nouveau-né: seuls les grossesses physiologiques et les accouchements à terme sans complications peuvent être l'occasion d'un prélèvement de sang placentaire. Il a lieu dans les minutes qui suivent l'accouchement.

Deux techniques de prélèvement du sang placentaire sont répertoriées dans le monde : [79]

◆ La méthode ex utero : le prélèvement est effectué après que le placenta a été expulsé de l'utérus .Le placenta est placé sur un champ stérile, permettant de laisser prendre le cordon ombilical. Après désinfection, une aiguille connectée à une poche de prélèvement, est insérée dans la veine du cordon ombilical .Le sang placentaire est recueilli par gravité dans un dispositif de collecte similaire à celui utilisé lors des dons de sang périphériques. Cette technique présente un risque accru de contamination du sang placentaire.

◆ La méthode in utero : le prélèvement est réalisé alors que le placenta est encore dans l'utérus. Cette technique est la plus couramment utilisée en Europe et la seule employée en France .Après clampage du cordon ombilical et séparation du cordon ombilical et du nouveau-né ,la veine ombilicale est désinfectée, puis ponctionnée à l'aide d'une aiguille reliée à une poche de prélèvement .Le sang restant dans le cordon ombilical est ainsi recueilli par l'action de gravité. De légères pressions sont exercées, afin de faciliter l'expulsion maximale du sang et prévenir la coagulation à l'intérieur du vaisseau sanguin. Le volume de sang restant dans le cordon ombilical peut varier de 10 à 250 ml, avec une collecte moyenne entre 75 et 100 ml. Cette technique est plus invasive et peut risquer d'interférer avec les soins dispensés à la mère après délivrance. (Figure 15)

En cas de difficulté, une deuxième ponction est réalisable en utilisant la seconde aiguille du dispositif selon le même mode opératoire. Pour des raisons d'asepsie, on ne repique jamais avec la même aiguille.

La feuille technique de prélèvement est complétée et la poche est étiquetée avec une étiquette au nom de la mère, une étiquette d'identification du nouveau-né et une étiquette code à barre, garantissant ainsi une traçabilité optimale [92].

Il doit être adressé rapidement à la banque de cellules qui doit entreprendre la cryopréservation des cellules souches hématopoïétiques dans les 24 heures après le prélèvement. Au-delà de ce délai leur viabilité décroît, ce qui les rend très vulnérables à la cryopréservation et risque d'entraîner un mauvais rendement à la décongélation.

quantité nécessaire de cellules souches hématopoïétiques pour que le sang de cordon puisse être conservé varie en fonction de l'objectif : lors d'un banking systématique (non familial), le nombre de cellules doit être supérieur à 2×10^6 cellules CD34+, alors qu'en cas de conservation pour une greffe allogénique familiale, aucune quantité minimale de cellules souches hématopoïétiques n'est requise pour conserver le greffon (en cas de greffon pauvre, une greffe de sang de cordon peut être associée à un prélèvement, quelques années après la naissance, de moelle osseuse issu du même enfant HLA-compatible).

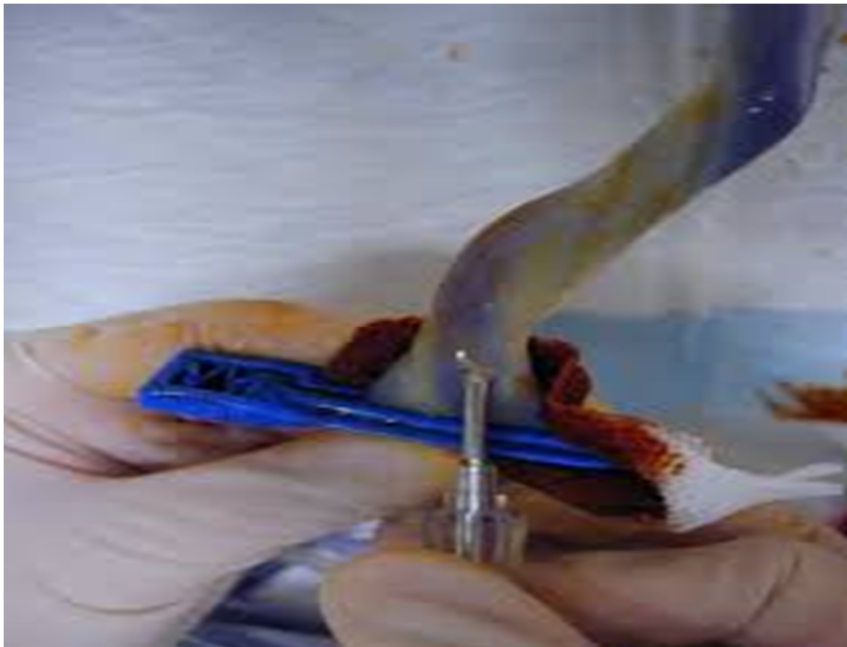


Figure 15 : Prélèvement de sang de cordon ombilical par ponction de la veine ombilicale. [93]

B.2.2.Composition cellulaire du greffon et influence sur les greffes hématopoïétiques :

✚ Contenu cellulaire du greffon et son influence sur les greffes hématopoïétiques:

La principale particularité des greffons d'origine placentaire est leur faible richesse en cellule nucléée et plus particulièrement en cellules souches CD34+. Le nombre de cellules CD34+ /kg est environ 10 fois plus faible dans les greffons placentaires que dans les greffons de CSP ou de moelle osseuse .La faible richesse en cellules souches est responsable d'une incidence plus faible de prise de greffe .Augmenter la richesse des greffons est un enjeu majeur dans ce type de greffe notamment pour les patients adultes .

De plus la composition des greffons de cellules souches diffère par rapport aux autres greffons. Par exemple, le nombre de lymphocyte T et B naïfs est plus important proportionnellement aux lymphocytes matures dans les USP. Ceci est un facteur pouvant expliquer la plus faible incidence de GVH et l'augmentation des infections opportunistes dans les allogreffes des cellules souches [94].

✚ Traitement et conservation du greffon de sang placentaire :

En France, les unités de sang placentaire sont collectées dans un réseau de plus de 70 maternités réparties sur l'ensemble du territoire national et rattachées à 11 banques publiques affiliées au Réseau français de sang placentaire. Cette collecte est réalisée sur le principe du don anonyme, gratuit et pour autrui. Seules les unités de sang placentaire répondant aux critères quantitatifs du Réseau français de sang placentaire (cellules nucléées $> 100 \times 10^7$ et cellules CD34+ $> 1,8 \times 10^6$) sont cryopréservées. La qualification des unités sera complétée par des tests virologiques et fonctionnels sur les unités de sang placentaire ainsi que par le recueil de l'état de santé du nouveau-né donneur six semaines après le don. [95]

Depuis trois ans, les besoins en sang de cordon, n'augmentent plus en France. Raison pour laquelle l'Agence de la Biomédecine a décidé de restreindre les prélèvements. En 2015, seules 3 des 11 banques de sang placentaire devraient continuer le stockage de nouveaux greffons.

Une fois réalisé, ce don est alors étiqueté et conservé moins de 24 heures dans la maternité avant envoi sur la banque de sang placentaire. Deux à trois jours après la naissance de l'enfant, le pédiatre de la maternité remplit une qualification néonatale de l'enfant ayant pour objectif de vérifier la bonne santé du nouveau-né. Six semaines après la naissance, une nouvelle qualification post-natale sera réalisée par le médecin qui suit l'enfant afin de confirmer le bon état de santé de celui-ci ; le document sera alors adressé à la banque.

À réception à la banque, un échantillon de l'USP est prélevé pour déterminer quelles unités iront vers l'étape de processing et congélation. Le critère de sélection établi par le RFSP repose sur la richesse en cellules nucléées ($> 140 \times 10^7$) sur le produit cellulaire prélevé. Une réduction de volume est réalisée sur les USP avec une technique automatique permettant une bonne reproductivité de la concentration. Cette étape de miniaturisation permet de réduire le volume de plasma et de globules rouges résiduels. Le volume final de produit fini est de 25 ml après addition du DMSO/Dextran utilisé comme cryoprotecteur

[96]. Des segments attachés restent liés à la poche et permettent de réaliser des tests complémentaires au moment de la cession de l'USP. Les USP sont alors congelées dans un programmateur de descente en température contrôlée ou dans un automate assurant la congélation et le stockage. La miniaturisation des unités facilite la conservation en azote gazeux ou liquide à court et à long terme en limitant les espaces nécessaires de stockage. À la congélation, les USP ne sont conservées que si elles répondent aux deux critères quantitatifs établis par le RFSP qui sont une richesse en cellules nucléées ($> 100 \times 10^7$) et en CSH CD34+ ($> 1,8 \times 10^6$). Cette sélection réalisée sur des critères quantitatifs exigeants permet le banking de greffons riches en cellules nucléées et en cellules souches CD34+ qui sont les deux critères quantitatifs pris en compte pour le choix d'une USP par les cliniciens avec les caractéristiques HLA [97,98]. Par ailleurs, la quantité de cellules à greffer est proportionnelle au poids du receveur d'où l'intérêt de congeler des USP riches. La qualification des USP comprend également l'obtention des données de viabilité cellulaire, contrôle de stérilité, numération des érythroblastes, électrophorèse de l'hémoglobine, phénotypage HLA de l'USP, bilans virologiques sur le sérum de la mère (incluant les tests de détection du génome viral), test clonogénique des CFU-GM.

B.2.3. Don de sang de cordon :

B.2.3.1. Avant le prélèvement :

➤ Information pré-don :

La patiente reçoit une information claire et adaptée écrite et orale dispensée par les sages-femmes et/ou les gynécologues-obstétriciens lors des consultations prénatales. Cet entretien souligne l'utilité du don et son innocuité vis-à-vis de la mère et de son enfant.

A cette occasion, un document d'information et un consentement sont remis et la patiente est avertie de la nécessité d'une consultation médicale.

➤ Recueil du consentement écrit :

Lors de la consultation médicale, le praticien interroge la patiente sur une éventuelle contre-indication au don de sang, apporte un complément d'information, répond aux éventuelles questions et recueille son consentement écrit signé.

Le consentement se présente sous la forme d'un exemplaire à trois feuillets, dont un est remis à la patiente, un figure dans le dossier médical et le troisième pour l'EFS.

Ce document doit être obligatoirement signé par la future mère. La signature du conjoint n'est pas recevable. De même, l'opposition de ce dernier au prélèvement de sang placentaire n'est en aucun cas un motif de non-réalisation du don, la décision finale revenant exclusivement à la patiente.

Ce consentement est nécessaire en raison de la réalisation de tests sérologiques de dépistage de maladies transmissibles en supplément de ceux réalisés dans le suivi classique d'une grossesse (dépistage des marqueurs vis-à-vis de l'HTLV ; des hépatites B et C, de la syphilis, du cytomégalovirus, de l'Epstein Barr Virus et de la toxoplasmose).

A tout moment, la patiente peut revenir sur sa décision par simple signalement oral, même après avoir donné son consentement. Toute femme peut être recrutée pour le don de sang de cordon. Cependant, certaines seront écartées s'il existe un ou plusieurs critères d'exclusion. Dans ce cas, toute patiente jugée inapte au don, se doit d'être informée des raisons de son éviction.

B.2.3.2. Le prélèvement :

➤ Les conditions :

Le don de sang placentaire est bénévole, anonyme et gratuit. Il nécessite l'absence de risques pour la mère et le nouveau-né: seuls les grossesses physiologiques et les accouchements à terme sans complications peuvent être l'occasion d'un prélèvement de sang placentaire.

Tout évènement anormal survenant au cours du travail, est laissé à l'appréciation de la sage-femme et/ou du gynécologue-obstétricien. Eux seuls jugent de l'opportunité du prélèvement en regard de la sécurité de la mère et de son nouveau-né. Le prélèvement est effectué par un obstétricien ou une sage-femme diplômée d'état. Cette dernière doit être spécifiquement formée c'est-à-dire que pour pouvoir prétendre faire un prélèvement seule, elle doit en avoir réalisé au moins cinq sous encadrement [92].

C. PROTOCOLES DE L'ALLOGREFFE :

C.1. Choix du donneur :

Le choix d'un donneur repose en premier lieu sur la compatibilité tissulaire entre le donneur et le receveur. Cette compatibilité tissulaire correspond à l'expression similaire d'un certain nombre d'antigènes du soi, appelés encore antigène HLA ou antigènes majeur d'histocompatibilité, à la surface des cellules [79].

L'histocompatibilité a été découverte en 1958 par Jean Dausset, un médecin français qui démontre l'existence d'antigènes particuliers à la surface des lymphocytes et de toutes les cellules nucléées de l'organisme. Ces antigènes d'histocompatibilité sont différents d'un individu à l'autre si bien qu'ils constituent une identité immunologique unique à chacun. Lorsque les premières greffes de CSH ont été effectuées, les antigènes d'histocompatibilité ont d'abord été appelés «antigènes de transplantation» car ils semblaient déterminer le rejet ou la prise de la greffe [99].

Le système HLA regroupe plus de 200 gènes présents sur le bras court du chromosome 6. Cette région est divisée en 3 parties, appelées HLA de classe I, II et III. Les gènes du système HLA ont pour caractéristique commune d'être particulièrement polymorphes, exprimés de façon co-dominante et transmis à la descendance par haplotype complet.

Le système HLA de classe I est constitué d'une vingtaine de gènes. Il est exprimé par la majorité des cellules nucléées de l'organisme et par les plaquettes. Les loci A, B et C sont véritablement impliqués dans le fonctionnement du système immunitaire. La fonction essentielle de ces molécules HLA classe I est de présenter en surface les antigènes provenant des pathogènes qui se répliquent dans le cytoplasme. Ces antigènes sont alors reconnus par les cellules T cytotoxiques CD8+. Le système HLA de classe II est exprimé par les cellules présentatrices d'antigène, principalement les macrophages, les cellules dendritiques, les lymphocytes B et les lymphocytes T activés. Les principaux loci sont DR, DQ et DP. Les molécules HLA classe II lient les peptides dérivés d'antigènes internalisés dans les compartiments endosomiques de la cellule. Ces antigènes sont alors reconnus par les

lymphocytes T auxiliaires naïfs dans l'étape initiale des réponses immunitaires. Les lymphocytes T du receveur peuvent reconnaître les antigènes du donneur et provoquer un rejet de greffe. A l'inverse, les lymphocytes du donneur peuvent reconnaître les antigènes du receveur et entraîner une GVHD [79].

Un donneur de CSH est considéré compatible avec le receveur s'ils sont HLA identiques pour les loci A, B, C, DRB1 et DQB1. Lorsqu'une allogreffe est envisagée, un typage HLA est donc réalisé chez le patient par méthode sérologique ou en biologie moléculaire pour les antigènes HLA de classe I (A, B et C) et en biologie moléculaire pour les antigènes de classe II (DR, DP et DQ). En première intention, on recherche un donneur familial géno-identique dans la fratrie. En l'absence de donneur familial, une interrogation des registres est effectuée afin de trouver un donneur non-apparenté ayant une phéno-identité HLA de 10/10ème, voire de 9/10ème en cas d'hémopathies de pronostic très sévère [100,101]. Classiquement, les greffes réalisées à partir d'un donneur non-apparenté présentent un risque supérieur de GVH et de rejet de greffe [102]. Les résultats en termes d'efficacité et de complications des greffes à partir de donneurs non-apparentés 10/10ème parfaitement appariés sont toutefois similaires à ceux observés à partir de donneurs familiaux pour les hémopathies malignes à risque standard [103]. De plus, le nombre de donneurs accessibles grâce aux fichiers internationaux augmentant, la proportion d'allogreffes non-apparentées a progressé chaque année jusqu'à dépasser celles des allogreffes familiales [104].

D'autres paramètres que le degré de compatibilité HLA peuvent par ailleurs influencer sur le déroulement de la greffe comme le sexe du donneur (le risque de GVH serait supérieur en cas de donneur de sexe féminin pour un receveur de sexe masculin) [105] ou son statut pour le cytomégalovirus (qui peut favoriser ou non la réactivation de ce virus en post- greffe) [106]. Ces critères de choix restent cependant secondaires et n'interviennent que dans les rares cas où il existe plusieurs donneurs compatibles .

C.1.1. Donneur familial :

- ✚ Les greffes syngéniques, (à partir d'un jumeau), ont été les premières allogreffes réalisées. Compte tenu de l'absence d'effet GvL, ce type d'allogreffe n'est pas recommandé chez les patients atteints d'hémopathies malignes.
- ✚ Les greffes géno-identiques (à partir de la fratrie compatible), permettent de réaliser des allogreffes pour lesquelles la mortalité non liée à la rechute est la plus faible. Les greffes géno-identiques sont à privilégier chez tout patient en attente d'allogreffe.
- ✚ Les greffes haplo-identiques sont réalisées à partir de donneurs HLA semi-compatibles issus de la famille (parents, fratrie, enfants). L'avantage de ce type de greffe est la rapidité de mise à disposition du greffon. On considère que 95% des patients ont un donneur familial semi-identique potentiel. Les patients greffés à partir de greffons haplo-identiques ont un risque important de non prise de greffe ou de développer une GvH. L'injection de cyclophosphamide dans les jours suivant l'allogreffe a permis de limiter l'incidence de GvH et de rejet. Ces patients ont néanmoins un risque de rechute important. La place des greffes haplo-identiques vis-à-vis des greffes de SC reste à définir [79].

C.1.2. Donneur issu de registre :

Dans 70% des cas, un donneur intrafamilial n'existe pas, si bien qu'un donneur extra-familial doit être recherché dans une base mondiale de données appelée Bone Marrow Donors Worldwide (BMDW). Les chances de trouver un donneur sont de 30 à 40 %. Les allogreffes sont donc réalisées avec des donneurs volontaires inscrits sur les fichiers internationaux de donneurs.

Ces donneurs peuvent avoir soit une compatibilité HLA totale sur les 10 locus (greffes phéno-identiques), soit un mismatch. Dans le cas des greffes non apparentées et particulièrement en cas de mismatch, le risque de GvH est supérieur aux greffes géno-identiques [79].

C.2. Conditionnements pré-greffe de receveur et ses effets secondaires :

L'allogreffe de CSH peut être décrite en 4 grandes étapes :

- ✚ Le conditionnement qui permet la destruction de l'hématopoïèse résiduelle et d'obtenir un état d'immunodépression de l'hôte pour éviter le rejet du greffon.
- ✚ La transfusion des CSH correspondant traditionnellement au jour zéro J0.
- ✚ La reconstitution hématologique. L'aplasie dure entre 12 et 30 jours.
- ✚ La reconstitution immunologique qui peut nécessiter plusieurs mois voire plusieurs années. (Figure 16)

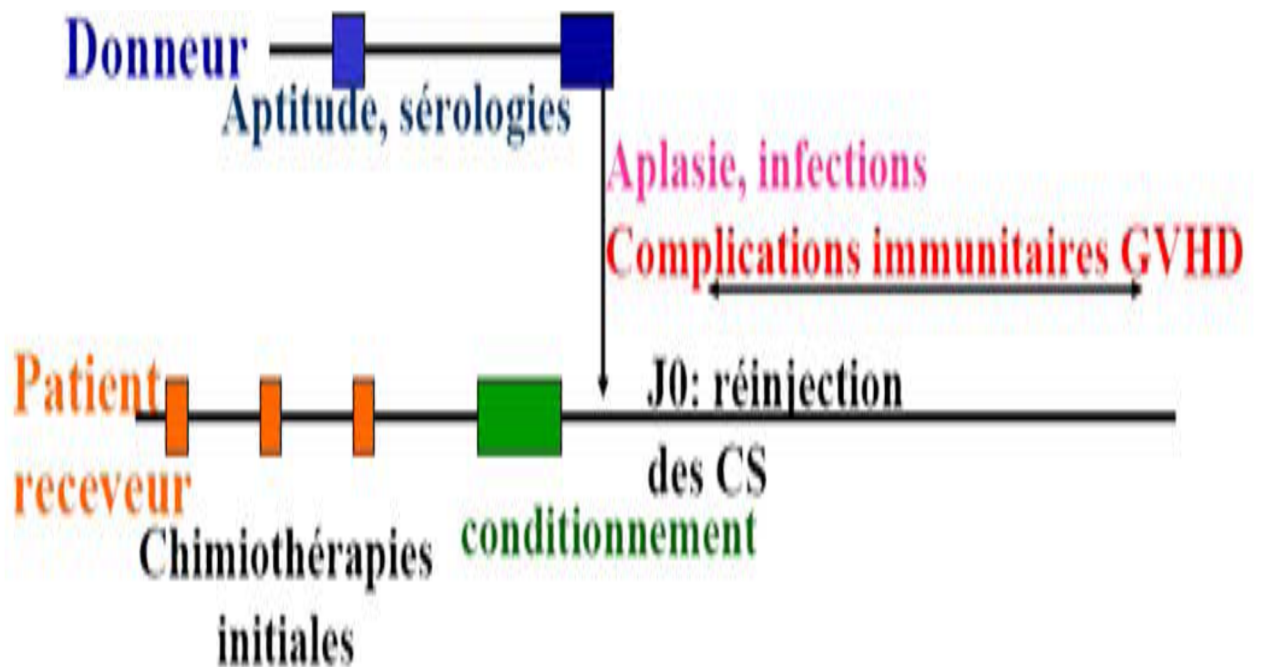


Figure 16 : Les étapes de l'allogreffe de CSH [134].

Les conditionnements des allogreffes de CSH répondent à trois principes :

- ✚ Création d'une immunosuppression chez le patient, afin que le greffon puisse s'installer et ainsi permettre l'effet GvL : effet immunosuppresseur.
- ✚ Création d'espace en détruisant la moelle osseuse : effet myélosuppresseur ou myélotoxique.
- ✚ Destruction du clone malin : effet antitumoral. Ce dernier est plus important avec un conditionnement myéloablatif qu'avec un conditionnement d'intensité réduite ou qu'avec un conditionnement non myéloablatif qui repose sur l'effet immunosuppresseur [79].

Il existe en effet trois types de conditionnements : les conditionnements myéloablatifs, les conditionnements d'intensité réduite et les conditionnements non myéloablatifs.

La durée d'aplasie est variable en fonction des types de conditionnement [76] :

- **les conditionnements myéloablatifs** : responsables de cytopénies profondes et irréversibles et donc un support de CSH est indispensable pour permettre la reconstitution hématopoïétiques.
- **les conditionnements non myéloablatifs** : entraînent peu de cytopénie, ainsi la greffe n'est en théorie, pas indispensable.
- **les conditionnements d'intensité réduite** : conditionnements d'intensité intermédiaire, responsables de cytopénies de durée variables, rendant nécessaire un support de CSH pour permettre une reconstitution hématologique dans un délai raisonnable. Cependant ces cytopénies associées aux conditionnements d'intensité réduite ne sont pas irréversibles.

Le conditionnement joue un rôle important dans l'allogreffe de CSH puisqu'il permet d'assurer l'immunosuppression nécessaire à la prise de greffe. Il peut également détruire, en fonction de son intensité et des drogues utilisées, les éventuelles cellules malignes du receveur. Initialement, les premiers conditionnements étaient myéloablatifs (MA), entraînant une destruction supposée définitive du tissu hématopoïétique de l'hôte.

 **Techniques :**

➤ les conditionnements myéloablatifs :

Actuellement en France, les conditionnements myéloablatifs s'utilisent majoritairement dans les greffes autologues.

On considère qu'un conditionnement est myéloablatif si la dose d'irradiation corporelle totale (ICT) est au moins équivalente à 5 Gray en une dose ou 8 gray en doses cumulatives fractionnées ou si la dose de busulfan est strictement supérieure à 8mg/kg per os ou 6,4 mg/kg inta-veineux [76]. Les conditionnements myéloablatifs sont surtout utilisés chez les enfants car leur tolérance est meilleure.

Les premières allogreffes chez l'homme ont été conditionnées par une ICT à 8,5 Gy en une dose .Cependant l'ICT seule ne permettait pas un contrôle durable de la maladie .Rapidement le cyclophosphamide, agent immunosuppresseur et antitumoral, a été associé à l'ICT, entraînant une diminution des rechutes .Les scientifiques ont ensuite fractionné la dose d'ICT afin d'en limiter les complications tout en montrant la persistance d'une efficacité correcte du conditionnement .Le protocole publié par Deeg et ses collaborateurs, en 1986 associant le cyclophosphamide à la dose de 120kg/mg réparti en deux jours et l'ICT à 12 Gy, est le conditionnement myéloablatif avec ICT le plus utilisé aujourd'hui .

Dans les années 1980, les chercheurs ont essayé de mettre au point des conditionnements sans ICT afin de diminuer les complications à long terme liées à l'irradiation. Ainsi plusieurs drogues, telles que l'aracytine forte dose, le busulfan, l'étoposide, le melphalan, ont été testées en association avec le cyclophosphamide. L'association du busulfan per os avec le cyclophosphamide reste le conditionnement myéloablatif sans ICT de référence aujourd'hui, à la nuance près que le busulfan per os ait été remplacé en 2003 par le busulfan administré par voie intr-veineuse. Ce passage a permis de contourner les problèmes de sous dosage, secondaire à des difficultés de prise chez des patients ayant des nausées et une mucite, ou surdosage, responsables d'un risque accrue de maladies veino-occlusives.

Les différentes études prospectives et rétrospectives ayant comparées les conditionnements (ICT +cyclophosphamide) et (busulfan+cyclophosphamide), n'ont pas permis de montrer la supériorité d'un conditionnement vis-à-vis d'un autre [79].

Actuellement les études se portent vers une réduction de la toxicité des conditionnements myéloablatifs, notamment en remplaçant le cyclophosphamide par de la fludarabine [107,108], ou de la clofarabine [109] mais ces conditionnements myéloablatifs dits à toxicité réduite serait moins efficace [110].

➤ Les conditionnements non myéloablatifs :

Le principal inconvénient des conditionnements myéloablatifs est leur toxicité importante rendant difficile leur réalisation après l'âge de 50ans. Les conditionnements non myéloablatifs ont été développés à partir des années 1990, afin de rendre l'allogreffe accessible aux patients âgés ou ayant des comorbidités. Ces conditionnements sont d'intensité faible pour lesquels la myélotoxicité est pratiquement nulle. Il existe différents types de conditionnements non myéloablatif : ICT de 1 ou 2 Gy ± fludarabine, irradiation totale des organes lymphoïdes ± sérum anti-lymphocytaire (SAL), fludarabine ou cyclophosphamide + SAL, cladribine + aracytine, fludarabine+aracytine+idarubicine [76]. Il s'accompagne d'une mortalité non liée à la rechute faible [77], cependant l'incidence de rechute est élevée.

➤ Les conditionnements d'intensité réduite :

Ces conditionnements sont d'intensité intermédiaire. Il se base sur l'immunomodulation pour permettre pour la prise de greffe et l'éradication de la maladie.

Le conditionnement d'intensité réduite est un bon compromis entre efficacité, évaluée par la survie sans maladie et tolérance, évaluée par la mortalité non liée à la rechute [111, 112, 78].

Les conditionnements d'intensité réduite sont définis par les caractéristiques suivantes : ICT < 8 Gy en doses fractionnées ou < 5 Gy en dose unique, busulfan \leq 8 mg/kg per os, melphalan \leq 140 mg/m², thiotepa < 10mg/kg [76,113]. Ces conditionnements sont fréquemment basés sur l'association de fludarabine et de busulfan tel que le conditionnement de référence aujourd'hui dit FB2A2 [114,115].

✚ **Effets secondaires :** [116]

➤ Effets cytotoxiques :

Le traitement de conditionnement préalable à la greffe de cellules souches allogéniques peut nuire à tous les systèmes qui dépendent du remplacement cellulaire par les cellules souches. En particulier, les parties du corps suivantes sont très sensibles aux médicaments cytotoxiques et à la radiothérapie :

▪ **Appareil digestif :**

Des ulcères et un dysfonctionnement de l'appareil digestif surviennent fréquemment. Des ulcères buccaux, des nausées, de la diarrhée, des crampes intestinales et des ulcères rectaux ou anaux peuvent survenir.

▪ **Peau :**

Des éruptions cutanées peuvent se produire. Les effets cutanés sont évalués et traités afin de soulager les patients et de prévenir de graves complications.

▪ **Follicules pileux :**

La perte des cheveux se produit à la suite de nombreux schémas de conditionnement. Elle est généralement temporaire et les cheveux recommencent à pousser lorsque la posologie des médicaments est réduite ou que le traitement médicamenteux est interrompu.

▪ **Poumons :**

Cette partie du corps est sensible au schéma de conditionnement, en particulier l'irradiation globale à la suite d'une chimiothérapie. Une réaction appelée "pneumonite (pneumonie) interstitielle" peut se produire. Cet effet secondaire est causé par une réaction tissulaire et ne signifie pas qu'il y a présence d'infection. Cependant, cette réaction peut être très grave et empêcher l'échange efficace de l'oxygène dans les poumons. Elle est traitée à l'aide de médicaments. Il est important qu'un patient ressentant des essoufflements ou une nouvelle toux après une greffe allogénique en avise immédiatement son médecin.

▪ **Vaisseaux sanguins :**

Les vaisseaux sanguins peuvent devenir perméables en raison de l'accumulation de lésions causées par la chimiothérapie et la radiothérapie. Les substances chimiques libérées à la suite des réactions immunitaires qui se produisent après une greffe peuvent également contribuer à cet effet en endommageant la paroi des vaisseaux. Du liquide s'écoule de la circulation sanguine et provoque un œdème, ou gonflement des tissus. Dans les poumons, l'accumulation de liquide peut provoquer une congestion, un mauvais échange d'oxygène et des essoufflements. Des agents comme les corticostéroïdes, qui réduisent l'inflammation, sont parfois utilisés pour traiter cette complication.

▪ **Foie :**

Les vaisseaux sanguins qui mènent au foie et le traversent sont sujets au blocage à la suite d'une greffe. Cet effet secondaire grave est appelé "maladie veino occlusive" (MVO) parce que les veines sont obstruées. Cet effet est provoqué par des changements toxiques dans le foie causés par la chimiothérapie et la radiothérapie. Ces changements entraînent des lésions au foie et se manifestent sous forme de jaunisse (jaunissement de la peau et des yeux) et d'accumulation de liquide dans l'abdomen et ailleurs. Parfois, les toxines normalement éliminées par le foie peuvent s'accumuler et entraîner une confusion mentale et de la somnolence. Le traitement de la MVO peut comprendre des transfusions de globules rouges, et l'administration de diurétiques.

▪ **Infections :**

Un traitement intensif est habituellement requis afin de supprimer la fonction immunitaire (lorsque des cellules de donneur sont greffées) et de tuer les cellules tumorales avant la greffe. La suppression des globules blancs, qui préviennent ou combattent habituellement les infections, entraîne un risque élevé d'infection. La probabilité qu'une infection par des bactéries, des champignons microscopiques, des virus ou d'autres parasites se produise est élevée. Ces microorganismes sont habituellement présents à la surface de la peau, dans la bouche ou dans la partie inférieure du côlon. Ils se trouvent également dans les aliments crus (par exemple, les laitues à feuilles) et dans l'air.

Lorsque la quantité de cellules sanguines et de cellules immunitaires est normale et que la peau et les muqueuses de la bouche et des intestins sont intactes, notre corps combat facilement ces microbes. Ces mécanismes de défense normaux sont par contre absents chez les patients greffés. C'est pourquoi on administre parfois des antibiotiques et d'autres médicaments antimicrobiens aux patients pour prévenir les infections. On poursuit habituellement ce traitement médicamenteux jusqu'à ce que les globules blancs soient en quantité suffisante dans le sang pour que le risque d'infection soit faible. Le terme infection opportuniste s'applique aux infections causées par des agents bactériens, fongiques et viraux qui entraînent rarement une maladie chez les personnes saines mais qui provoquent une infection chez les personnes souffrant d'une immunodéficience grave. Ces agents infectieux comprennent certaines variétés des organismes : Candida, Aspergillus, Pneumocystis et Toxoplasma.

De nombreuses précautions sont prises afin de minimiser le risque d'infection. Les mesures visant à prévenir les infections comprennent l'usage d'une chambre privée avec système de filtration d'air, le contrôle du contact avec les visiteurs, l'utilisation de masques et le lavage méticuleux des mains par le personnel et les visiteurs qui entrent dans la chambre du patient. Les cathéters centraux doivent toujours être propres. On conseille habituellement aux patients d'éviter certains aliments qui peuvent porter des bactéries ou des champignons en surface, dont les fruits et légumes non cuits et autres aliments crus.

C.3. Protocole d'administration du greffon et surveillance clinique :

C.3.1. Transfusion des CSH et la phase d'aplasie :

Avant l'administration des greffons préalablement collectés et conservés, il faut décongeler les CSH qui ont été cryoconservées. Cela se fait par un réchauffement rapide au bain marie à 37°C ou 40°C puis par un lavage du greffon pour éliminer le DMSO toxique pour l'Homme si il est injecté. Les allogreffes des CSH provenant de la moelle osseuse du donneur se font généralement 24 heures après le prélèvement après avoir retiré les fragments d'os, les particules de matière grasse et les gros agrégats de cellules de la suspension cellulaire en utilisant des filtres spéciaux.

Quelques jours sont encore nécessaires avant que les cellules de la greffe soient réinjectées pour permettre l'élimination complète des drogues chimiothérapeutiques employés pour le conditionnement car ils pourraient détruire la greffe. Le jour de la greffe, désigné par définition le jour zéro (J0).

L'administration du greffon est réalisée de manière assez simple et est identique quel que soit son origine (moelle osseuse, sang périphérique ou sang de cordon). La procédure ressemble à une transfusion sanguine, mais doit être administrée dans un gros vaisseau sanguin grâce à un cathéter central placé au niveau de la cage thoracique. La perfusion de la suspension prend habituellement plusieurs heures. Les patients sont examinés fréquemment pour déceler des signes de fièvre, de frissons, d'urticaire, de baisse de la tension artérielle ou d'essoufflement. Souvent, les patients ne ressentent aucun effet secondaire lié à la transfusion. Des réactions à l'agent de cryoconservation que contiennent les suspensions de cellules souches décongelées peuvent également survenir chez les patients recevant ce traitement. Les effets secondaires sont entre autres les maux de tête, les nausées, les bouffées vasomotrices (rougeurs au visage) et l'essoufflement. Ces problèmes peuvent habituellement être maîtrisés.

Après la greffe, le patient se retrouve généralement en aplasie. Pendant cette période, le patient est exposé à des complications infectieuses ainsi qu'à des complications liées au conditionnement (mucite, maladie veino-occlusive).

Les cellules réinjectées vont alors se loger dans la moelle osseuse et produire les nouvelles cellules du sang. Habituellement, de deux à cinq semaines après la greffe, la prise de greffe des cellules du donneur commence à être apparente, comme l'indique l'apparition de globules blancs normaux dans le sang du patient. Des transfusions de globules rouges et de plaquettes sont réalisées périodiquement jusqu'à ce que les cellules souches greffées rétablissent la fonction médullaire.

Le patient est surveillé étroitement au moyen d'examen physiques, d'analyses sanguines, d'examen d'imagerie médicale et d'autres tests, afin de s'assurer que les principaux organes, comme le cœur, les poumons, les reins et le foie, fonctionnent normalement [116].

C.3.2. La prise de greffe et le chimérisme :

La sortie d'aplasie est définie en par le premier des trois jours consécutifs pour lequel le taux de PNN est $\geq 500/\text{mm}^3$. La prise de greffe correspond à une sortie d'aplasie chez le patient associée à une reconstitution hématologique d'origine allogénique évaluée par l'étude du chimérisme. La non prise de greffe (rejet primaire) est définie comme l'absence de sortie d'aplasie après le 60ème jour pour les allogreffes de cellules souches, ou par une reconstitution hématologique autologue évaluée par l'étude du chimérisme. Le chimérisme est l'examen biologique permettant de déterminer le ratio de cellules hématopoïétiques du donneur et du receveur. On considère que la greffe a pris si les cellules du donneur sont détectées à un taux $> 5\%$ avec l'objectif d'atteindre à terme un taux de 100%. Le rejet est rare en allogreffe. Les facteurs de risque de rejet primaire sont les allogreffes de SC, les mismatches HLA entre donneur et receveur, la présence d'anticorps anti-HLA dirigé contre le donneur chez le patient, l'incompatibilité sexuelle entre donneur et receveur. La perte secondaire du greffon (rejet secondaire) est souvent associée à une rechute de l'hémopathie [79].

Durant cette période de prise de greffe, le processus curatif commence avec la résolution des mucites et d'autres lésions acquises lors du conditionnement. La fièvre commence à baisser et les infections sont moins fréquentes. Le défi principal à ce moment est la prophylaxie, le traitement de la GVH et la prévention des infections virales, particulièrement à cytomégalovirus (CMV) [52].

Dans la maladie du greffon contre l'hôte, les cellules souches greffées du donneur attaquent l'organisme du receveur. Dans tous les cas de greffe de cellules souches allogéniques, des médicaments sont administrés afin de la prévenir. Différents agents sont utilisés pour la prévenir. Les schémas thérapeutiques courants sont entre autres : la cyclosporine et le méthotrexate; le tacrolimus et le méthotrexate; le tacrolimus et le mycophénolate mofétil. Récemment, on a rapporté que l'association de tacrolimus et de sirolimus était efficace dans la prévention de la MGCH. Tous ces schémas thérapeutiques suppriment le système immunitaire; il est possible que les patients doivent continuer à les prendre pendant plusieurs mois après la greffe. Elle peut varier d'une forme à peine perceptible à une forme potentiellement mortelle. La fréquence et la gravité de cette réaction augmentent avec l'âge [116].

C.3.3. La reconstitution immunitaire :

En effet, le retard de reconstitution immunitaire chez les receveurs d'allogreffes de CSH est la cause principale du développement de certaines complications post-allogreffes parmi lesquelles des infections sévères, qui sont associées à une morbidité et une mortalité importantes, des tumeurs secondaires tel que la lymphoprolifération induite par l'Epstein-Barr virus ou à la rechute de la maladie initiale.

La reconstitution immunitaire a lieu progressivement au cours des mois suivant l'allogreffe avec initialement la restauration de l'immunité innée (PNN, monocytes, macrophages, cellules NK), puis plus tardivement, la restauration de l'immunité adaptative (lymphocyte B et T). De nombreux facteurs, tels que le type de greffon (SC), le type de greffe, la présence d'une GvH ralentissent la reconstitution immunitaire[79].

D.EFFET BENEFIQUE DE L'ALLOGREFFE DANS LE TRAITEMENT DES HEMOPATHIES MALIGNES:

Les hémopathies malignes représentent la principale indication de l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) en hématologie.

D.1. La réaction du greffon contre la leucémie (effet GvL) :

La notion selon laquelle l'alloréactivité puisse générer un effet anti-leucémique a été suggérée dans un modèle murin de leucémie pour lequel le taux de rechute après autogreffe était supérieur à celui observé suite à une allogreffe. Chez l'homme, l'effet GvL est étroitement corrélé à la GvH, en effet le taux de rechutes de la leucémie est moindre chez les patients présentant une GvH. D'autres preuves de l'effet GvL en transplantation ont ensuite été accumulées au fil des années. Il a notamment été observé que :

- L'arrêt du traitement immunosuppresseur après l'allogreffe était susceptible d'induire une rémission de la maladie.
- Le taux de rechute après allogreffe était plus faible qu'après une autogreffe.
- La déplétion des lymphocytes T du greffon diminue certes le risque de GvH, mais est associée à un risque plus important de rechute.
- Dans environ 80% des cas aujourd'hui, le donneur compatible est un frère ou une sœur du receveur: il s'agit alors d'une greffe dite « géno-identique ». Un cas particulier de greffe géno-identique est la greffe « syngénique » réalisée entre jumeaux monozygotes, contexte dans lequel l'effet allogénique est très faible, qui est associée à un risque plus important de rechute.

Enfin, l'induction d'une rémission chez les patients en rechute par l'injection de lymphocytes du donneur est la preuve la plus évidente du rôle de l'alloréactivité [117].

L'efficacité clinique de l'effet GvL dépend du type d'hémopathie maligne. En effet, celui-ci est très important dans la leucémie myéloïde chronique (LMC) : environ 15% des patients greffés en phase chronique avec une moelle non manipulée présentent une rechute contre plus de 70% lorsque la moelle est déplétée en cellules T [118]. Dans cette pathologie,

l'effet GvL peut être potentialisé par l'injection de lymphocytes du donneur (DLI) dans la prévention de la rechute. L'effet GvL est également notable dans les leucémies aiguës myéloïdes qui bénéficient également de l'apport des DLI en présence de signes précurseurs ou avérés de rechute. En revanche, l'effet GvL semble moins efficace dans les leucémies aiguës lymphoïdes [118].

D.1 .1. Les différents antigènes intervenant dans l'effet GvL :

Bien que la séquence des antigènes soit encore peu connue, ils peuvent néanmoins être classés en trois grandes catégories :

- ✚ Les antigènes ubiquitaires sont largement distribués chez le receveur ce qui les rend responsables du déclenchement d'un effet GvH ou GvL non spécifique. Il s'agit principalement des antigènes mineurs d'histocompatibilité (peptides dérivés de protéines polymorphiques du soi codées par des gènes non liés au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH)).
- ✚ Les antigènes considérés comme tissus spécifiques ont été retrouvés sur des cellules d'origine lymphoïde ou myéloïde.
- ✚ Les antigènes spécifiques de certaines leucémies sont des protéines issues de translocation chromosomique (cas de la LMC), de mutations ou de délétions présentes dans le génome des cellules leucémiques. C'est le modèle le plus favorable à l'effet GvL, les cibles de l'effet étant spécifiques des cellules leucémiques.

D.1 .2. Mécanismes effecteurs :

L'effet GvL qui conduit à la destruction des cellules tumorales fait appel à trois mécanismes effecteurs :

- ✚ La libération de perforine ou de granzyme par les lymphocytes T cytotoxiques,
- ✚ Par apoptose de la cellule déclenchée par l'engagement de la voie Fas/ Fas ligand,
- ✚ Par la libération de cytokines permettant également de contrôler la prolifération.

E. REACTIONS POST-GREFFES ET PRISE EN CHARGE :

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

La morbidité et la mortalité liées à la GvH restent parmi les principaux obstacles au développement de l'allogreffe. Considérée souvent comme la face sombre de l'effet du greffon contre la leucémie (GvL), la GvH correspond à une attaque des tissus du receveur par les cellules immunitaires du donneur présentes dans le greffon après une transplantation de CSH. Il existe deux formes cliniques de la GvH : celle se produisant dans les 100 jours qui suivent la greffe, appelée GvH aiguë (GvHa), et celle se produisant au-delà des 100 premiers jours post-greffe, appelée GvH chronique (GvHc).

La GvHa a pour cible le plus souvent les cellules épithéliales de la peau, du tube digestif, du foie, du poumon et peut également avoir pour cible les cellules hématopoïétiques. La GvHc est multi-systémique. La GvH est une complication fréquente de l'allogreffe de CSH. Une allogreffe ne peut être envisagée que s'il existe une compatibilité tissulaire entre le receveur et son donneur, cette compatibilité étant établie par la détermination des antigènes du système HLA. La plupart du temps, les allogreffes font appel à un donneur familial HLA compatible, mais elles ont aussi lieu avec un donneur HLA compatible non apparenté.

La GvH survient lors de greffes allogéniques, quand il n'est pas mis en place une immunosuppression préventive. Cependant, malgré l'instauration d'un traitement préventif, elle peut survenir dans le cadre des greffes HLA partiellement compatibles, mais aussi quasi constamment dans le cadre des greffes ayant lieu avec un donneur non apparenté HLA compatible, et de façon beaucoup plus rare lors d'une greffe avec donneur apparenté génomique. Ainsi, les cibles de la GvH sont donc soit les antigènes du système HLA de classe I ou II, en cas d'incompatibilité HLA partielle, soit les antigènes mineurs d'histocompatibilité en cas de greffe HLA compatible [119].

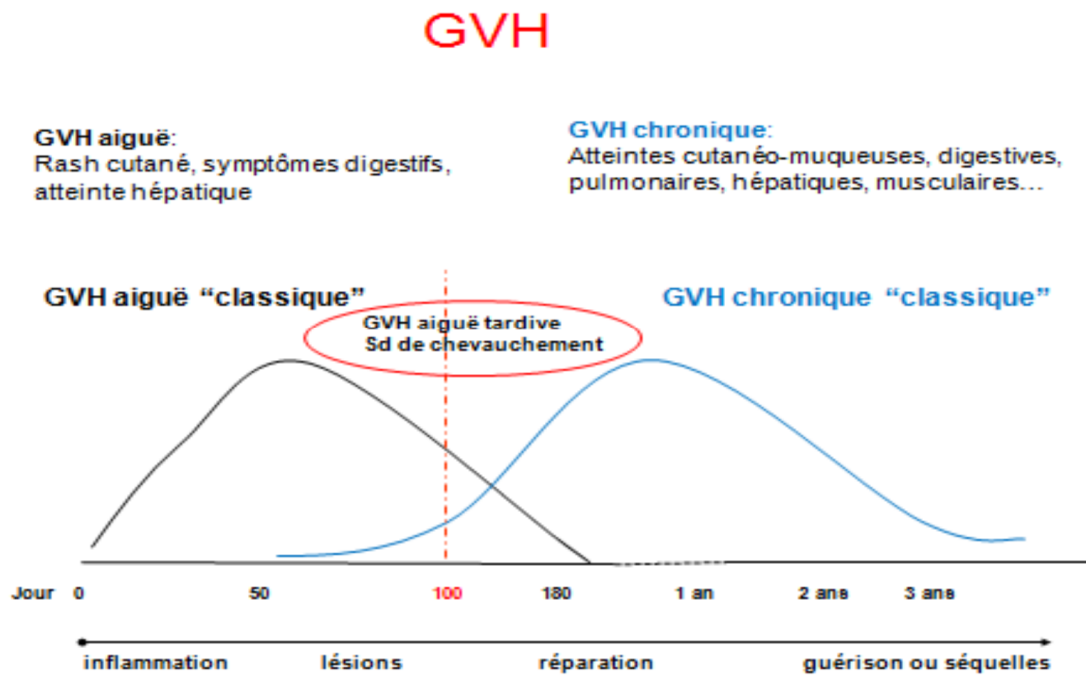


Figure 17 : Cinétique de survenue de la GVH aiguë et de la GVH chronique [134]

E.1.1. GVH aiguë (GVHa) :

La GVH est une réaction des lymphocytes T du donneur dans leur nouvel environnement. Ces cellules deviennent activées et prolifèrent en réponse aux cellules présentatrices d'antigène du receveur. Le déclencheur initial de cette réaction serait un environnement riche en cytokines pro-inflammatoires dans les suites de l'agression du conditionnement. Ce mécanisme initial semble plus difficile à mettre en cause dans le cadre des conditionnements réduits qui sont moins agressifs pour les tissus du receveur. La GVH aiguë s'exprime cliniquement avec une atteinte variable dermatologique, gastro-intestinale, et hépatique. Une atteinte pulmonaire, d'une façon moins certaine, pourrait aussi être une manifestation de la GVH aiguë [102].

La sévérité de la GVH est déterminée par l'étendue de l'atteinte des trois organes cibles (peau, système gastro-intestinal, foie) avec les grades cote de I à IV : I (légère), II (modérée), III (sévère), IV (très sévère). Une atteinte sévère ou très sévère (grade III ou IV) est d'un pronostic très péjoratif (survie de 25% respectivement) [102,120] ainsi que toute atteinte cortico-résistante [121].

Grade	Peau	Foie	Tube digestif	Etat clinique
I	1-2	0	0	Normal
II	1-3	1	1	Moyen
III	2-3	2-3	2-3	Très altéré
IV	2-4	2-4	2-4	Impotence complète

Tableau I : Classification en grades de la GVHa [134].

E.1.1.1. Description clinique et facteurs de risques :

La GvHa se caractérise par trois atteintes préférentielles : des lésions cutanées (érythèmes), des lésions hépatiques (cholestase), des lésions du tube digestif (diarrhées), ainsi que par une atteinte diffuse du système immunitaire et du thymus en particulier.

▪ Atteinte cutanée :

L'atteinte cutanée débute le plus souvent par un érythème maculo-papuleux atteignant fréquemment les paumes et plantes. Cette atteinte peut s'étendre, dans les GVH de grade IV, jusqu'au décollement en lambeaux, provoqué (signe de Nikolsky) voire spontané (épidermolyse). Les 2 principaux diagnostics différentiels sont l'atteinte cutanée virale et la toxidermie.

▪ Atteinte hépatique :

Cette atteinte se traduit le plus souvent par des perturbations du bilan biologique hépatique. Il s'agit habituellement d'une cholestase ictérique se traduisant par une élévation de la bilirubine directe, des Phosphatases alcalines et des gamma-GT. Il peut également exister, dans les atteintes sévères, une cytolyse hépatique pouvant évoluer vers l'insuffisance hépatocellulaire.

▪ Atteinte digestive :

L'atteinte du tube digestif est principalement marquée par l'apparition d'une diarrhée aqueuse, verdâtre, souvent abondante jusqu'à plusieurs litres par jour, pouvant s'accompagner de rectorragies. Il peut s'y associer d'autres signes digestifs tels que nausées, vomissements, douleurs abdominales, défaut d'absorption et entéropathie exsudative. Dans les formes sévères, des complications digestives peuvent survenir telles que les hémorragies digestives, les syndromes occlusifs, la dénutrition sévère et les sepsis secondaires à une translocation bactérienne.

Le diagnostic de GVH aiguë digestive est fait sur des critères cliniques mais également sur des critères radiologiques (aspect d'iléite sur le transit oeso-gastroduodéal (TOGD), aspect de colite sur l'enteroscanner, vidéo-capsule) et histologiques après biopsie sous endoscopie. Il convient également d'éliminer les diagnostics différentiels tels que les diarrhées liées à des infections virales ou bactériennes, ou encore liées à une toxicité médicamenteuse.

Les principaux facteurs associés à la survenue de GvHa sont : une incompatibilité HLA sur un ou plusieurs loci, l'âge élevé du receveur ou du donneur, un donneur de sexe féminin, une hémopathie en phase évolutive, l'origine des cellules de greffon (un greffon issu d'un sang placentaire contient des cellules tolérogènes qui contribuent à moins de GvH), un conditionnement renforcé et la survenue d'une infection (en particulier le CMV).

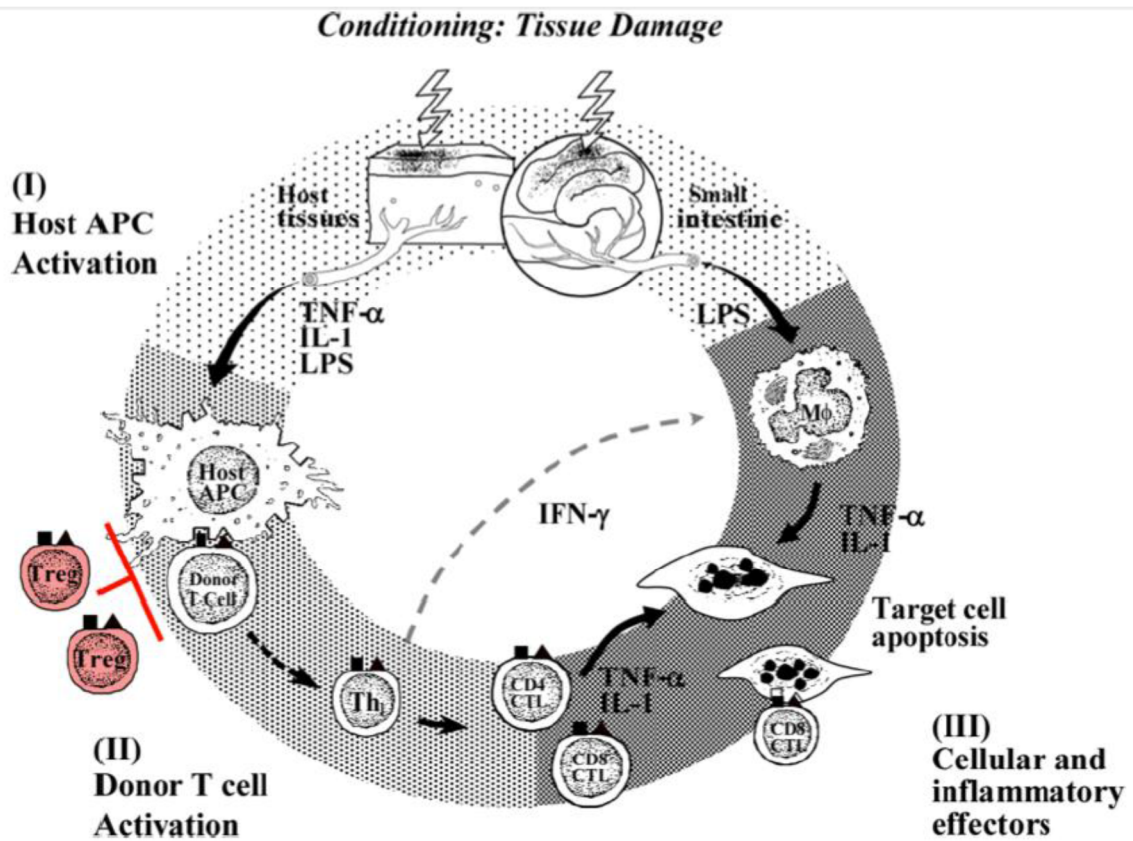
Selon le score de Glucksberg, on classera la GVHa en fonction de l'importance des atteintes de la peau, du foie et du tube digestif :

Stade	Peau	Foie (bili)	TD (diarrhées)
0	Pas de rash	< 34 µmol/l	< 500ml/j
1	< 25 % SC	34-50 µmol/l	500-1000 ml/j
2	25-50% SC	51-102 µmol/l	1000-1500 ml/j
3	> 50 % SC	103-255 µmol/l	> 1500ml/j
4	Erythrodermie/ bulles/desquamation	> 255 µmol/l	> 1500 ml/j + dls abdos +/- ileus

Grade	Peau	Foie (bili)	TD (diarrhées)
I	St 1 ou 2	St 0	St 0
II	St 0-2	St 1	St 0-1
II	St 3	St 0-1	St 0-1
III	St 0-2	St 0-2	St 0-2
III	St 3	St 0-3	St 0-4
IV	St 0-4	St 0-4	St 0-4

Tableau II: Score de Glucksberg. [155].

E.1.1.2. Physiopathologie :



**Figure 18 : Physiopathologie de la maladie aiguë
du greffon contre l'hôte [102].**

Conditionning : conditionnement ; Tissue Damage : lésions tissulaires ; Host APC Activation: activation des cellules présentatrices d'antigènes de l'hôte ; Donor T cell Activation : activation des cellules T du donneur ; Cellular and inflammatory effectors : effecteurs cellulaires et inflammatoires ; Host tissues : tissus de l'hôte ; small intestine : intestin grêle ; $\text{TNF}\alpha$: facteur de nécrose tumorale alpha ; IL-1 : interleukine-1 ; LPS : lipopolysaccharides ; Treg : lymphocytes T régulateurs ; CD4/CD8 CTL : lymphocytes T cytotoxiques CD4+/CD8+ ; $\text{IFN}\gamma$: interféron gamma ; Target cell apoptosis : cellules cibles de l'apoptose; M Φ : macrophages.

✚ Première étape : activation des CPA

La phase d'initiation implique de multiples cibles et acteurs.

➤ La disparité HLA :

L'incompatibilité majeure HLA représente la principale cause de GVHa. L'identification d'un donneur HLA compatible n'étant pas possible pour chaque patient, de multiples études sur les incompatibilités HLA ont été réalisées. Plusieurs combinaisons d'incompatibilité HLA associées à un risque de GVHa sévère ont été identifiées [122]. Récemment, l'identification de substitutions d'acides aminés au niveau de la pochette captant l'antigène des molécules HLA de classe I HLA-B et HLA-C a été associée à un risque élevé de développement de la GVHa [123]. Cette étude suggère de sélectionner un donneur non-apparenté en évitant les substitutions d'acides aminés en position 99 et 116 de molécule HLA classe C et en position 9 de la molécule HLA classe B entre le receveur et le donneur. Les antigènes mineurs d'histocompatibilité (miHA) sont aussi impliqués dans la physiopathologie de la GVHa, en particulier lors d'une allogreffe avec un donneur compatible apparenté. Une des différences de miHA les mieux étudiées implique les réponses immunes contre les antigènes du chromosome Y développées lors de la combinaison d'une donneuse et d'un receveur de sexe masculin, faisant préférer la sélection d'un donneur masculin. La présence de miHA sur des chromosomes autosomes a aussi été décrite comme facteur de risque de développement d'une GVHD [124]. Finalement, les différences de combinaisons entre les récepteurs inhibiteurs des cellules NK (killer inhibitory receptor KIR) et les ligands des KIR entre le receveur et le donneur peuvent intervenir dans la physiopathologie de la GVHa ajoutant de la complexité à l'identification des déterminants antigéniques [125,126].

➤ Déterminants non génétiques :

Plusieurs déterminants non génétiques ont été identifiés, principalement des signaux de dangers, les DAMPs et/ou les PAMPs. Les DAMPs incluent les composants de la matrice extra-cellulaire (MEC), l'ATP et l'acide urique. L'héparine sulfate, composant de la MEC et agoniste du TLR4, peut promouvoir la réponse allo-immune des lymphocytes T. Elle est élevée dans la GVHa chez l'homme et dans les modèles murins, mais cette augmentation n'a

pas été retrouvée au niveau des lésions tissulaires de GVH [127]. L'ATP relarguée par les cellules « en apoptose » est capable d'induire une réaction inflammatoire. De plus la neutralisation de l'ATP ou de son récepteur au niveau des cellules du système immunitaire, P2X7R, entraîne une diminution du développement de GVH dans des modèles expérimentaux [128]. L'acide urique peut aussi agir tel un DAMP par la production IL-1 β médiée par l'inflammasome NLRP3 [129]. S'ajoutant aux signaux endogènes de dangers, les PAMPS associés aux infections virales et bactériennes participent au développement d'un milieu inflammatoire [130]. Cependant, certains PAMPS ne sont pas associés au développement de la GVHD. Ainsi, Hossain et al ont montré dans un modèle expérimentale de GVHD que la flagelline, composant des flagelles des bactéries et agoniste du TLR5, était associée à une diminution d'incidence de GVHD et participait à une meilleure reconstitution immunitaire [131].

Les CPA capables de contribuer à la réaction de GVHD peuvent provenir de l'hôte ou du greffon. Ayant un rôle majeur dans l'initiation de la GVHD [131,132], les CPA du donneur représentent une cible intéressante dans la prévention de la GVHD. Cependant, Li et al ont montré, sur un modèle animal, que la déplétion de cellules dendritiques, des cellules de Langerhans et des cellules B de l'hôte n'empêchait pas le développement de la GVHD. De plus la déplétion des macrophages de l'hôte des organes lymphoïdes entraînait une exacerbation du développement de la GVHD, révélant un probable rôle protecteur [133]. Le rôle exact des différentes catégories de CPA restent donc à définir.

Deuxième étape : activation des lymphocytes T du donneur [134] :

L'activation des lymphocytes T requiert deux types de signaux de stimulation. Premièrement, le récepteur des lymphocytes T (TCR) doit être engagé et reconnaître les antigènes dans un contexte HLA. Récemment, une population de lymphocytes T exprimant un double TCR, résultant potentiellement de processus aléatoire durant la sélection thymique, a été identifiée avec une alloréactivité majeure dans la GVHD chez l'homme. Secondairement, un signal de co-stimulation par les CPA est nécessaire à l'activation des lymphocytes T qui acquièrent alors des fonctions effectrices. Après activation, ces lymphocytes T prolifèrent et

migrent en réponse à un milieu inflammatoire et à l'activation de leurs récepteurs aux chémokines. L'expression de ces récepteurs varie selon les différentes populations de lymphocytes T dans le sang périphérique modifiant le homing de ces lymphocytes T activés à différents tissus. Ainsi, une diminution du nombre de lymphocytes T CCR6⁺ a été observée chez les patients présentant une GVHa due au homing de ces lymphocytes CCR6⁺ au niveau des tissus cibles CCL20. De façon similaire, Avanzini et ses collaborateurs ont montré une diminution de la proportion de lymphocytes T CD8⁺CD45RA^β7integrin⁺ chez les patients présentant une GVHa digestive, bien qu'une augmentation de lymphocytes T mémoires CD8⁺α4^β7integrin⁺ a aussi été décrite au cours de la GVHa. Les lymphocytes T naïfs du donneur ont un rôle majeur dans la physiopathologie de la GVHa. Les lymphocytes T mémoire sont moins alloréactifs et ne semblent pas, à un tel degré, initier les manifestations de GVHD. Cependant, les lymphocytes T mémoire participent à la poursuite de la GVHD.

D'autres types cellulaires participent à la réaction inflammatoire de la GVHa, tels que les polynucléaires neutrophiles (PNN), les cellules NKT, les cellules NK, les cellules dendritiques plasmacytoïdes. Les PNN sont produits rapidement après allogreffe et sont des effecteurs secondaires dans la GVHa. Ils sont recrutés dans les organes cibles par des cytokines dont IL-8. Concernant les cellules NK, les études de bioluminescence ont montré une circulation et une prolifération similaire à ceux des lymphocytes T après infusion, bien que les cellules NK n'initient pas la GVHD dans ce modèle. Le rôle des lymphocytes B est principalement décrit dans la pathogénèse de la GVH chronique ; quelques études ont rapporté une diminution d'incidence de GVHa après des greffes B déplétées. D'autres types cellulaires agissent tels des suppresseurs de GVHa, diminuant l'inflammation et promouvant l'immuno-tolérance. Plusieurs études ont montré l'efficacité des lymphocytes T régulateurs (Treg) dans la prévention et traitement de la GVHa. Les mécanismes suppressifs de Treg sont multiples parmi lesquels la diminution de l'expression du TLR5. Une autre population de lymphocytes CD4⁺, les cellules Th9, a récemment été décrite dans un modèle murin de GVHa. Les cellules Th9 sécrètent de l'IL-9 et diminuent la sécrétion d'interféron gamma (IFN γ) réduisant la réaction de GVHa tout en préservant l'effet du greffon contre la maladie

(GVT). Leur implication dans la GVHa chez l'homme n'a pas été décrite. Les cellules myéloïdes suppressives (MDSC) peuvent atténuer la GVHa par de multiples mécanismes. Plusieurs équipes ont décrit les cellules iNKT (invariant NKT) comme facteur protecteur de développement de la GVHa.

L'activation des cellules immunitaires entraînent des cascades biochimiques intracellulaires induisant la transcription de gènes de nombreuses protéines, dont les chémokines, les cytokines et leurs récepteurs.

Les cellules Th1 et les cytokines associées (interféron γ , IL-1, IL-2, IL-6, IL-12 et TNF α) sont sécrétées en quantité importante pendant la GVHa.

▪ La production d'IL-2 par les lymphocytes T du donneur est une des cibles principales des thérapeutiques de la GVHa telles que la ciclosporine, le tacrolimus et certains anticorps. Cependant les données concernant le rôle de l'IL-2 sur les Tregs suggèrent que bloquer IL-2 peut aussi diminuer l'immuno-tolérance.

▪ L'interféron γ (IFN γ) possède de multiples fonctions et peut amplifier ou réduire la GVH. Il peut accentuer ce phénomène en augmentant l'expression des molécules telles que les récepteurs des chémokines, les protéines du CMH, et les molécules d'adhérence. Il accentue aussi la sensibilité des macrophages et des monocytes aux stimuli. L'IFN γ peut aussi amplifier la GVHa en endommageant directement l'épithélium du tractus digestif ou cutané. A l'inverse, cette cytokine peut diminuer la GVH en accélérant le processus d'apoptose des lymphocytes T activés.

Récemment, plusieurs études ont montré l'implication de l'IL-22 dans la physiopathologie de la GVHa. Le déficit d'IL-22 chez le receveur entraîne une augmentation de l'apoptose des cryptes intestinales, une déplétion des cellules souches intestinales et une perte de l'intégrité de l'épithélium intestinal⁹⁷. Couturier et al ont montré, dans un modèle murin d'allogreffe, que le déficit de production d'IL-22 par les cellules T du donneur induisait une diminution de la sévérité de la GVHa tout en préservant l'effet du greffon contre la leucémie.

✚ **Troisième étape : phase effectrice induisant des lésions tissulaires [134] :**

Les lymphocytes T cytotoxiques, les cellules NK, les cellules NKT et macrophages entraînent alors des lésions tissulaires en réaction, correspondant à la phase effectrice. Les lymphocytes T cytotoxiques utilisent principalement la voie Fas/FasL dans la GVH digestive et la voie perforine/granzymes dans la GVHa cutané et hépatique. Les chémokines dirigent la migration des lymphocytes T du donneur depuis les tissus lymphoïdes vers les organes cibles qui vont être lésés.

Les cellules T ont été les principales cellules étudiées dans la GVHD et la plupart des traitements prophylactiques ou curatifs ont pour but de diminuer l'activité de ces effecteurs.

Durant la phase effectrice, le phénomène inflammatoire se majore rapidement induisant des lésions des tissus cibles. La cascade inflammatoire peut entraîner la sécrétion de biomarqueurs de la GVHa dans la circulation sanguine reflétant l'activation des cellules effectrices ainsi que les lésions tissulaires. Ces biomarqueurs tels que le CD30 sur les lymphocytes T activés, elafin (spécifique de la GVHa cutanée), regenerating islet-derived 3-alpha (REG3 α , spécifique de la GVH digestive), suppressor of tumorigenicity 2 (ST2, un membre de la famille des récepteurs de IL-1- fixant IL-33) peuvent même apparaître avant la survenue de signes cliniques et représentent de possibles facteur prédictifs de la gravité de la GVHa et de la réponse au traitement.

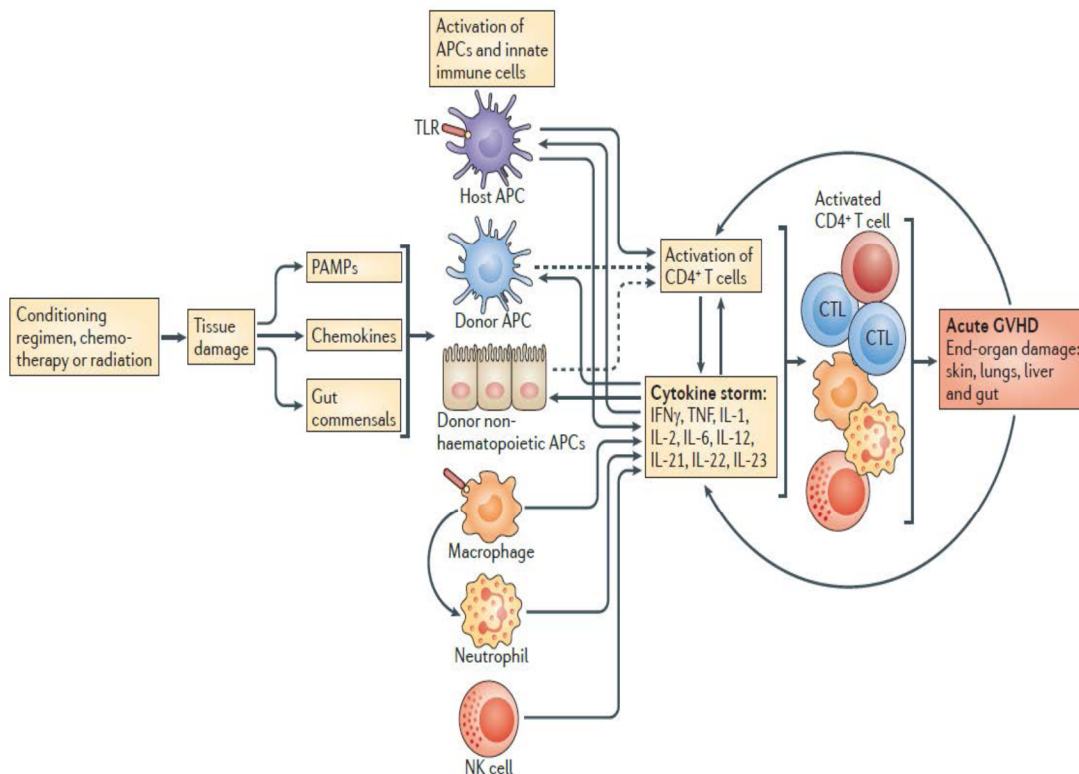


Figure 19: La réaction en chaîne de la GVHa selon Blazar et coll. [135].

E.1.1.3. Prophylaxie :

Une prophylaxie de la GVH est réalisée au décours du conditionnement puis poursuivie en général jusque J100, en absence de complications. Cette prophylaxie est décidée en fonction du type de conditionnement, du type de donneur, du type de greffon, de la source de cellules souches hématopoïétiques et en fonction des facteurs de risque de GVH. Les immunosuppresseurs ont pour objectif d'inhiber l'activation et la prolifération des lymphocytes T [136, 137]. Les différentes classes d'immunosuppresseurs sont :

- Modulateurs de cytokines : inhibiteurs de la calcineurine (Ciclosporine, Tacrolimus) et inhibiteurs des cytokines (Sirolimus).
- Antiprolifératifs (antipurines) : azathioprine (Imurel), Mycophénolate mofétil (Cellcept), Methotrexate.

- Anticorps anti-lymphocytaires : anti-récepteurs à l'interleukine 2 (basilimax Simulect), sérum anti-lymphocytaire (Thymoglobuline).
- Corticostéroïdes (Prednisone, Prednisolone).

En général, l'association Ciclosporine A et Methotrexate est utilisée en prévention de la GVH des allogreffes à conditionnements standards ou myéloablatifs. Lors des conditionnements non myéloablatifs, la Ciclosporine A peut être associée à du Mycophénolate Mophétil. En cas d'intolérance à la Ciclosporine, d'autres traitements peuvent être utilisés comme le Tacrolimus ou le Sirolimus. Le sérum antilymphocytaire (SAL) joue également un rôle dans la prophylaxie de la GVH

en déplantant in vivo le greffon en lymphocyte T. D'autre part, il a été montré que la nutrition entérale précoce avait un rôle protecteur par rapport à la survenue de GVH digestives sévères, mais également permettait d'améliorer la prise de greffe et la sortie d'aplasie [138, 139].

E.1.1.4. Traitement :

Le traitement de première ligne établi pour les patients nécessitant un traitement systémique est la corticothérapie à la dose journalière de 2 mg/kg. La réponse à cette première ligne de traitement est corrélée à la survie des patients, cependant on ne note que 20 à 50% de réponse à cette première ligne [140,141]. On ne note pas de bénéfice à une augmentation de dose. On parle de cortico-résistance en cas d'aggravation après 3 jours de corticothérapie ou d'absence d'amélioration au bout de 5-7 jours [142]. En cas de cortico-résistance, il a été montré une moindre probabilité de réponse avec les traitements suivants, avec une aggravation de la morbidité et de la mortalité secondaire à des complications infectieuses ou à des manifestations directes de la GVH [143]. L'ajout d'agents immunosuppresseurs à la corticothérapie n'a pas démontré son efficacité [144,145].

Les lignes suivantes, reposant sur l'association à d'autres immunosuppresseurs ou à des anticorps monoclonaux, sont moins codifiées. Il n'y a pas de standard et l'inclusion dans un essai thérapeutique doit être privilégiée si cela est possible. La succession des différents

traitements immunosuppresseurs, permettant une réduction modérée des signes cliniques mais ne semblant pas apporter de bénéfice ni sur la progression de la maladie ni sur la survie, est source d'une majoration des risques infectieux augmentant avec l'escalade de doses ou l'addition de ces traitements [146 ,147]. En cas de GVH aiguë digestive, une prise en charge chirurgicale peut être réalisée. Habituellement réservée aux occlusions ou aux manifestations hémorragiques, l'iléostomie de dérivation est réalisée dans notre centre en cas de GVH digestive aiguë cortico-résistante sévère afin de contourner la portion intestinale lésée et permettre la mise au repos de l'intestin restant.

E.1.2. La GvH chronique (GvHc) :

La GVHc est la principale cause de morbi-mortalité tardive non liée à la rechute. Il est plus fréquente avec les greffons de cellules souches issues du sang circulant .Elle peut apparaître d'une façon progressive, dans les suites d'une GVH aiguë, après une résolution complète d'une GVH aiguë, ou bien de novo, sans GVH aiguë à n'importe quel moment par rapport à la greffe, mais habituellement dans les trois premières années. La présentation clinique initiale est polymorphe et le syndrome de GvH chronique partage des signes avec des maladies auto-immunes comme la sclérodermie, la maladie de Goujerot-Sjôgren, la cirrhose biliaire primitive, la bronchiolite oblitérante, des cytopénies auto-immunes. Il existe des signes cliniques considérés comme «diagnostiques » c'est-à-dire suffisants pour porter le diagnostic, en particulier au niveau dermatologique, buccal, gastro-intestinal, ou pulmonaire.

✚ Classification de la GVHc :

Grade	Type d'atteinte
Limité	Atteinte cutanée localisée et/ou atteinte hépatique
Extensif	Atteinte cutanée localisée ou atteinte hépatique additionnée à l'une des atteintes suivantes : -Histologie hépatique montrant une hépatite chronique agressive, une nécrose ou une cirrhose. -Atteinte oculaire (Schirmer <5mn) -Atteinte salivaire ou buccale démontrée par biopsie -Atteinte de tout autre organe

Tableau III: Ancienne classification de la GVHc [150].

Depuis 2005, selon le degré et le nombre d'organes cibles atteints, on classe la GVHc en légère, modérée ou sévère.

Grade de GVH chronique	Atteinte maximale	Atteinte pulmonaire
Légère 29%	1 ou 2 organes atteints Et Score max =1	Non
Modérée 42%	1-2 organes et score max=2 Ou ≥ 3 organes et score max=1	Score =1
Sévère 28%	1 score=3 Ou ≥3 organes et score >1	Score ≥2

Tableau IV : classification grade de sévérité de la GVH chronique [149].

E.1.2.1. Description clinique et facteurs de risque :

La GvHc peut cliniquement s'apparenter à un syndrome auto-immun. Elle se définit par des atteintes identiques à celles de la GvHa, mais elle peut aussi s'étendre à d'autres territoires tels que les poumons ou les reins [148].

Les atteintes sont fréquemment cutanées, muqueuses, pulmonaires, hépatiques et oculaires, mais peuvent être très diverses. On distinguait classiquement les formes limitées et les formes extensives de la maladie. Une nouvelle classification a cependant été décrite, reposant sur une méthode de score classant la maladie en forme mineure, modérée ou sévère en fonction du type d'organe atteint et de la sévérité [149].

Les facteurs de risque sont l'âge élevé du patient ou du donneur, le degré de compatibilité tissulaire, l'utilisation d'un greffon issu d'un donneur non apparenté, l'utilisation des cellules du sang périphérique (CSP) par rapport à la moelle osseuse (MO), la survenue de la GvHa préalable et des injections de lymphocytes du donneur. La déplétion des lymphocytes T du greffon est associée à une baisse significative de la survenue de la GvHa ou GvHc.

E.1.2.2. Physiopathologie :

La physiopathologie de la GvH chronique est beaucoup moins documentée que celle de la GvH aiguë à cause de sa complexité. Les similarités cliniques observées entre la GvH chronique et les maladies auto-immunes suggèrent une dérégulation du système immunitaire. Ainsi, à l'alloréactivité s'ajoute une composante auto-immune probablement liée à un défaut d'éducation thymique des lymphocytes T issus de la lymphopoïèse à partir des cellules souches du greffon. Il y aurait un défaut de sélection négative des lymphocytes T autoréactifs et une diminution de la production de lymphocytes T régulateurs. La destruction des cellules épithéliales thymiques lors d'épisodes de GvH aiguë pourrait favoriser le développement de la GvH chronique. L'homéostasie du compartiment B est également perturbée en cas de GvH chronique ce qui suggère un rôle de la cellule B et des auto-anticorps dans la physiopathologie. En effet, une diminution significative des lymphocytes B naïfs associée à une expression importante du facteur d'activation des cellules B (BAFF) ont été mises en évidence lors de la réaction de GvH chronique [149].

E.1.2.3. Traitement :

Le traitement de la GVH chronique repose sur les traitements immunosuppresseurs classiques mais également sur les inhibiteurs de tyrosine kinase tel que l'Imatinib dans les formes sclérodermiformes sévères [151]. La photothérapie extracorporelle est également utilisée. La stratégie thérapeutique reste cependant peu codifiée.

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

L'idée que le greffon puisse contribuer à l'effet anti-leucémique a été proposée dès 1956 par Barnes à partir d'un modèle murin .Depuis, plusieurs études expérimentales argumentent l'existence d'un effet anti-leucémique des lymphocytes T issus du greffon :

- ✚ Le pourcentage de récurrence leucémique est plus important chez les receveurs de greffe syngénique que chez les receveurs de greffe allogénique.
- ✚ Les greffes hématopoïétiques déplétées ex vivo en lymphocytes T sont associées à un pourcentage de rechute leucémique plus élevé que lors de greffes non déplétées.
- ✚ La probabilité de rechute est plus faible chez les patients qui développent une GVH (aigüe ou chronique) que chez les patients qui n'en déclarent pas.
- ✚ L'infusion de lymphocytes T du donneur (DLI) à distance de la greffe s'avère un traitement efficace de la rechute d'hémopathies.

Les lymphocytes T présents dans le greffon jouent ainsi un rôle important dans la destruction des cellules tumorales persistantes ou émergentes. Ceci est possible grâce à la présence de certaines cellules immunocompétentes au sein du greffon, l'incapacité pour l'hôte de rejeter les cellules injectées et une disparité génique entre donneur et receveur .Les cellules immunitaires impliquées dans la GvL sont des lymphocytes T CD4⁺,CD8⁺ et les cellules NK contenus dans le greffon. Mais de façon générale les mécanismes d'action de la GvL sont mal connus.

E.3. Complications de l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques :

E.3.1. Complications infectieuses post allogreffe :

Les infections demeurent une cause de morbi-mortalité importante en post allogreffe. Cependant, au cours de la dernière décennie, on note une diminution de la mortalité liée aux infections, probablement en lien avec l'amélioration de mesures de supports, de nouvelles molécules anti-infectieuses et les conditionnements de toxicité réduite.

Les principaux facteurs de risque d'infection après la greffe sont le statut de la pathologie hématologique avant la greffe, les comorbidités du patient, le degré d'immunosuppression lié au conditionnement et à la prophylaxie de la GVH, la rupture des premières de défense (mucite).

En fonction du type de déficit immunitaire on observera différents types d'infections, ce qui permet de séparer en 3 phases la période post allogreffe.

✚ une phase précoce de J0 à J30 :

La première période correspond à la phase de neutropénie induite par le conditionnement, avant la prise de greffe, et dure deux à trois semaines. C'est la période des infections bactériennes, fongiques et éventuellement à virus Herpès simplex.

Grâce aux mesures d'hygiène et d'asepsie, à la décontamination digestive et aux antibiotiques à très large spectre prescrits dès la survenue d'un épisode fébrile, le problème des infections bactériennes précoces a presque complètement disparu, avec une réserve pour les infections à streptocoques.

Les réactivations fréquentes des infections à virus Herpès simplex, qui aggravent la mucite, sont facilement prévenues par de petites doses d'aciclovir. Le virus de la varicelle et du zona (*VZV*) peut également être réactivée. Ces réactivations peuvent être prévenues par de l'aciclovir ou du Valaciclovir.

Les septicémies à levures, en particulier du genre *Candida*, restent une préoccupation. Des infections pulmonaires à *Aspergillus* mais aussi à *Cryptococcus* peuvent également survenir. Des infections à mycobactéries atypiques peuvent également s'observer.

Afin d'éviter ces infections, le patient est maintenu en milieu hospitalier en secteur protégé [152].

Une phase intermédiaire de J30 à J100 :

La deuxième période est celle de la GVH aiguë éventuelle et s'étend par convention jusqu'au centième jour après la greffe. Les facteurs de risque essentiels sont l'existence d'une GVH et l'intensification du traitement immunosuppresseur qu'elle impose. La lenteur de la reconstitution Immunitaire associée à l'immunosuppression engendrée par la GvH et ses traitements favorisent la survenue de certaines complications post-allogreffe parmi lesquelles les infections virales, notamment celles à *Herpes viridae* (le virus d'Epstein-Barr (EBV) et le cytomégalovirus (CMV)) et à adénovirus (ADV)) qui sont responsables d'une morbidité et une mortalité importantes. D'autres virus présentant un risque de complication après allogreffe de CSH sont recensés dans le tableau (Tableau V). Le suivi régulier des charges virales permet d'anticiper le développement d'infections virales causées par les agents les plus fréquents [153].

En effet, l'EBV, quiescent dans les lymphocytes B, peut se réactiver et entraîner le développement d'un syndrome lymphoprolifératif post-greffe. Les infections à CMV après allogreffe de CSH sont associées à une forte morbidité et mortalité. Elle est assez souvent asymptomatique, mais peut se manifester par une pneumopathie ou une hépatite.

L'infection et la maladie à CMV sont beaucoup moins fréquentes après autogreffe de CSH, vraisemblablement du fait d'une reconstitution immunitaire plus précoce et plus efficace. En revanche, après une allogreffe de CSH, le risque de maladie à CMV est beaucoup plus élevé (50 %). La plupart des équipes en charge de ces patients mettent en place soit un traitement prophylactique, soit un traitement préemptif dès le premier prélèvement positif détectant la réplication du CMV. Ce genre de stratégie nécessite un suivi virologique par des techniques très sensibles. Les infections à ADV après allogreffe de CSH apparaissent comme une cause importante de morbidité et de mortalité, principalement chez l'enfant.

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

Les infections parasitaires à *Pneumocystis carinii* et à *Toxoplasma gondii* ont pratiquement complètement disparu grâce aux prophylaxies médicamenteuses qu'il faut poursuivre pendant toute la durée de l'immunosuppression [152,153].

Virus	Familles	Incidence post-allogreffe de CSH (%)	Maladies	Traitements	Références
HSV ½	Herpesviridae	78-80	Lésions muco-cutanée hémorragiques	Aciclovir, Valaciclovir	Darville et al. 1998 Sandherr et al. 2005
VZV (HHV3)	Herpesviridae	34,7	Eruption vésiculeuse douloureuse	Aciclovir, Valaciclovir, Fanciclovir	Asano-Mori et al. 2008
HHV6	Herpesviridae	48-72	Retard de sortie d'aplasie, insuffisance médullaire transitoire	Ganciclovir, Acyclovir, Cidofovir	de Pagter et al. 2008
BK virus	Polyomaviridae	3,6-20	Cytites hémorragiques	Cidofovir	Harkensee et al. 2008
Mtapneumovirus	Paramyxoviridae	2 ; 1	Infection respiratoire aiguë		Debur et al, 2010
Virus respiratoire syncytial (RSV)	Paramyxoviridae	11,6	Infection respiratoire	Ribavirin	Avestisyan et al, 2009
Parainfluenza	Paramyxoviridae	7,1	Infection respiratoire		Nichols et al. 2001

Tableau V : Complications infectieuses post allogreffe

✚ **une phase tardive après J100 :**

Le pronostic infectieux est déterminé par la présence ou l'absence de maladie du greffon contre l'hôte. C'est l'immunité à médiation cellulaire qui est fortement altérée lors de la GVHD et de son traitement, ce qui expose surtout le patient à des infections virales et fongiques, mais aussi à des microorganismes comme les mycobactéries ou *Listeria*. L'immaturation persistante de l'immunité humorale explique la survenue d'infections par des bactéries capsulées (pneumocoque...).

E.3.2. Complications à court terme de la greffe des CSH :

Les autres complications, à court terme, de la greffe sont représentées par les cystites hémorragiques, les pathologies de l'endothélium : les maladies veino-occlusives, les microangiopathies thrombotiques, le syndrome de prise de greffe, le syndrome de fuite capillaire, les pathologies neurologiques, le syndrome de pneumopathie idiopathique... .

E.3.2.1. Mucites :

Les mucites constituent la complication la plus fréquente des transplantations de cellules souches hématopoïétiques avec un conditionnement myéloablatif. Leur incidence est plus élevée lorsque le méthotrexate (MTX) est utilisé en prévention de la GVH. Une mucite oropharyngée est extrêmement douloureuse et justifie le recours à des antalgiques majeurs et peut, selon la localisation, nécessiter une intubation. Une mucite intestinale entraîne fréquemment des nausées, des crampes, ou une diarrhée et peut nécessiter une nutrition parentérale.

La sévérité de la mucite a été évaluée selon la classification de l'Organisation mondiale de la santé, une mucite sévère étant définie par un grade 3 ou 4 (Tableau VI) [154].

Grade de mucite	Définition
Grade 0	Pas de mucite
Grade 1	Douleurs buccales, érythème
Grade 2	Erythème buccal, ulcérations, alimentation solide possible
Grade 3	Ulcérations buccales, alimentation liquide uniquement possible
Grade 4	Alimentation per os impossible, alimentation entérale ou parentérale obligatoire

Tableau VI : Classification des mucites selon l’OMS.

E.3.2.2. Maladie veino-occlusive du foie (MVO):

Le second plus commun effet indésirable – et le plus grave – de ceux liés au conditionnement, c’est un syndrome potentiellement fatal, constitué par une hépatomégalie douloureuse, un ictère et rétention liquidienne.

Cependant, le terme de “syndrome d’obstruction des sinusoides” est plus précis en raison de l’atteinte des sinusoides centro-lobulaires, oblitérées par du tissu conjonctif, et d’une nécrose des hépatocytes centro-lobulaires qui obstrue alors la circulation hépatique. Dans les formes sévères de syndrome d’obstruction sinusoidale, le décès survient par défaillance multi-viscérale impliquant les reins et le système cardio-pulmonaire.

➤ Physiopathologie :

L’endothélium des cellules sinusoidales et les hépatocytes sont le site primaire de la toxicité, ensuite il y a un syndrome d’obstruction des sinusoides avec des anomalies de la microcirculation. Puis apparaissent des micro-thromboses des veinules et des sinusoides. Ensuite, on observe un stade hypercoagulant avec une baisse de l’antithrombine, de la protéine C et du facteur VII et une augmentation de la phospholipase A1. Enfin, on observe une hypertension portale et une fibrose puis une nécrose hépatocellulaire conduisant à un syndrome hépato rénal. Le stade terminal est une défaillance multi-organe.

➤ **Epidémiologie :**

L'incidence est de 10 à 15% des greffes. Les principaux facteurs de risque sont l'âge jeune (moins de 4 ans), l'utilisation de busulfan dans le conditionnement, les greffes non apparentées, l'ostéopétrose.

➤ **Prophylaxie :**

Une prophylaxie est réalisée en surveillant le taux de busulfan, en évitant les hépatotoxiques et en administrant de l'héparine à 100UI/kg et de l'acide ursodésoxycholique.

➤ **Diagnostic**

Cliniquement on observe un ictère, une rétention hydro sodée avec prise de poids et oedèmes, une ascite et une hépatomégalie douloureuse. Un écho doppler des veines hépatiques retrouve une augmentation des résistances et parfois une inversion du flux porte.

Au niveau biologique on observera une thrombopénie réfractaire aux transfusions, un temps de thrombine diminué avec une baisse du facteur VII et une diminution de l'antithrombine.

On peut également réaliser une biopsie hépatique (par voie transjugulaire). On observera une réduction concentrique non thrombotique de la lumière des petites veines intra hépatiques. Une biopsie normale n'exclue pas le diagnostic.

Il est nécessaire d'écarter les diagnostics différentiels tels qu'une infection, une GVH hépatique, une toxicité médicamenteuse.

➤ **Traitement :**

Le traitement est symptomatique avec une restriction hydro sodée, médicamenteux avec des diurétiques, une supplémentation en albumine afin de maintenir un volume intra vasculaire suffisant pour la perfusion rénale, des antalgiques.

Le traitement spécifique est le défibrotide qui agit en diminuant le taux de phospholipase A1 qui est l'inhibiteur principal de la cascade de fibrinolyse. En cas de MVO très sévère une transplantation hépatique peut être nécessaire.

E.3.2.3. Pneumopathie interstitielle :

Les pneumopathies interstitielles diffuses, non bactériennes, non fongiques constituent une entité anatomo-clinique particulière. Elles surviennent généralement dans les 4 mois après la greffe avec un pic entre la 8^{ème} et la 12^{ème} semaine et la mortalité dépasse 60 % dans un tableau de détresse respiratoire aiguë.

Une fibroscopie bronchique avec un lavage broncho-alvéolaire permet de mettre en évidence dans la majorité des cas l'agent infectieux en cause : CMV ou *Pneumocystis carinii*. Dans d'autres cas, on parle de pneumopathie interstitielle idiopathique dont la pathogénie reste discutée : agent pathogène inconnu, toxicité du conditionnement ou GVH [52].

E.3.2.4. Rejet du greffon :

Le rejet représente la destruction des cellules greffées par des cellules immunologiquement actives du receveur. Il est aujourd'hui peu fréquent : 5 % des greffes géno-identiques.

Cette complication est plus fréquente chez les patients avec une aplasie médullaire qui n'ont pas reçu d'irradiation corporelle totale dans le cadre du conditionnement.

Les facteurs de risque sont : des transfusions sanguines antérieures, un conditionnement pré-greffe moins intensif, une prophylaxie de la GVH basée sur le MTX plutôt que la ciclosporine, l'existence d'incompatibilités HLA et la déplétion in vitro en lymphocytes T du greffon [52].

E.3.2.5. Complications neurologiques :

Les complications neurologiques post-allogreffe de CSH peuvent toucher le système nerveux central (SNC) ou le système nerveux périphérique (SNP) et sont surtout en rapport avec des infections, la toxicité des chimiothérapies, ou l'encéphalopathie métabolique. Les complications neurologiques sont plus fréquentes en cas de donneur HLA non-identique.

➤ **Complications centrales :**

Les complications neurologiques centrales commencent à être bien caractérisées, en particulier les atteintes cérébrales. Les complications comprennent l'encéphalopathie métabolique, les infections du SNC chez les patients immunodéprimés et des complications cérébro-vasculaires. Les chimiothérapies fréquemment utilisées dans la greffe de CSH et associées à des atteintes cérébrales sont : la fludarabine, pouvant être responsables d'encéphalopathie, le busulfan, qui est connu pour provoquer des crises épileptiques, et les inhibiteurs de la calcineurine qui sont particulièrement neurotoxiques, pouvant être responsables de confusion, de crises, et de syndrome d'encéphalopathie postérieure réversible. La cytarabine à très hautes doses peut provoquer un syndrome cérébelleux aigu, une somnolence et parfois de crises comitiales.

Les patients greffés de CSH peuvent manifester, jusqu'à 80 jours après la greffe, des troubles neuropsychiatriques. Il est possible d'observer une altération de l'état général, une augmentation des manifestations douloureuses et le plus souvent une prolongation de l'hospitalisation.

➤ **Complications périphériques :**

Les complications périphériques sont moins bien décrites, avec en particulier des cas rapportés de syndrome de Guillain-Barré (GBS) dans les suites de greffe de CSH dont la majorité survient dans la période aigüe.

La myasthénie auto-immune et la myosite sont aussi parmi les complications post-allogreffe touchant le SNP. La myosite est reconnue comme rentrant dans le cadre de la GVH et est reconnue comme un signe distinctif de la GVH chronique, c'est-à-dire un signe faisant partie de la GVH chronique mais insuffisant si isolé pour faire le diagnostic.

E.3.3. Complications à long terme de la greffe des CSH :

La greffe est aussi associée à des complications à long terme liées au conditionnement telles que les cancers secondaires (thyroïde, mélanome...), les troubles endocriniens (infertilité, syndrome métabolique)...

Ce sont ces complications à long terme et la GVHc qui ont un impact sur la qualité de vie des patients guéris de leur pathologie initiale [155].

E.3.3.1. Dysfonctions d'organes :

Un problème majeur après la greffe est constitué par les dommages pouvant être irréversibles, infligés aux organes par le conditionnement. Il s'agit en particulier d'anomalies pulmonaires, cardiaques, rénales, buccales (dentaires, ou affectant les glandes salivaires), ophtalmiques, osseuses...

➤ Complications pulmonaires :

Conséquence du conditionnement, de la GVHD, des manifestations infectieuses. Une surveillance fonctionnelle est nécessaire.

❖ La bronchiolite oblitérante (BO) :

Elle constitue la réaction du greffon contre l'hôte chronique pulmonaire. L'agression de l'épithélium bronchiolaire par différents facteurs (chimiothérapie et radiothérapie du conditionnement, virus respiratoires par exemple) est probablement la 1ère étape conduisant à la BO. Il s'en suit un défaut de réparation de l'épithélium, une réponse inflammatoire inappropriée aboutissant à une fibrose obstruant les petites voies aériennes. Le diagnostic de certitude requiert une biopsie pulmonaire chirurgicale, qui est rarement réalisée dans ce contexte. De ce fait, des critères diagnostiques basés sur les explorations fonctionnelles respiratoires (EFR) ont été proposés pour la 1ère fois en 2005 par l'Institut national de la santé (NIH) et ils ont été récemment actualisés. Les présentations cliniques de la BO sont variées. Elle peut être asymptomatique de découverte fortuite sur des EFR, ou se présenter sous forme d'une dyspnée progressive, ou encore par la présence de couinements à l'auscultation pulmonaire. La BO apparaît comme un facteur de risque de mortalité chez les patients allogreffés de CSH : dans une étude récente, la survie à 5 ans est évaluée à 56 % chez les patients avec BO contre 68.5 % chez les patients sans BO. La difficulté de l'approche thérapeutique dans la BO, réside dans la mauvaise connaissance des mécanismes physiopathologiques, l'hétérogénéité des lésions histologiques retrouvées, ainsi que la mauvaise connaissance de l'histoire naturelle de la maladie.

L'amélioration dans la prise en charge diagnostique et thérapeutique de la BO réside dans l'évaluation des populations à risque, la mise en place d'outils diagnostiques précoces (critères diagnostiques, suivi EFR systématique), la limitation de la corticothérapie systémique et l'évaluation de l'efficacité des traitements dans des essais randomisés [156].

➤ **Complications rénales :**

Liées à la toxicité néphrologique de la Ciclosporine, des antibiotiques utilisés lors du traitement d'infections dues aux chimiothérapies, à l'irradiation corporelle totale ou encore à la survenue d'un syndrome hémolytique et urémique induit par la GVHD ou par la Ciclosporine.

La dysfonction rénale chronique est souvent multifactorielle, secondaire essentiellement à la toxicité endothéliale du conditionnement (néphropathie de la greffe de moelle) avec l'ICT et à l'utilisation de substances néphrotoxiques dont les inhibiteurs de la calcineurine, les aminoacides, l'amphotéricine B, l'altération de la fonction rénale pré-greffe, un antécédent d'insuffisance rénale aiguë et la GVH. Les lésions histologiques rénales post-greffe ressemblent à celles de la microangiopathie thrombotique. De rares cas de syndrome néphrotique ont été rapportés, soit idiopathique soit sous forme d'une glomérulonéphrite extra-membraneuse associée à une maladie du greffon contre l'hôte. La prévention passe par la prise en charge de l'hypertension artérielle, la restriction des traitements néphrotoxiques et/ou le monitoring des taux sanguins de ces médicaments. Une surveillance étroite de la pression artérielle, de la fonction rénale et de la protéinurie est obligatoire chez les patients subissant la transplantation de moelle surtout les plus âgés présentant une insuffisance rénale préexistante. Une biopsie rénale, après avis d'un pédiatre néphrologue, sera à réaliser chez les patients présentant une protéinurie et des hausses persistantes ou progressives de la créatinine sérique pour déterminer l'étiologie et prévenir la progression vers l'insuffisance rénale terminale [157].

➤ **Complications ophtalmologiques :**

Très peu d'études prospectives sur le sujet sont recensées et encore moins pédiatriques. Les principales séquelles ophtalmiques post-greffe décrites sont l'atteinte du segment postérieur (rétinopathie vasculaire, complications hémorragiques, rétinite infectieuse à cytomégalovirus. . .) et surtout du segment antérieur (cataracte). Les facteurs prédisposant à cela sont l'irradiation corporelle totale et la ciclosporine pour la rétinopathie vasculaire, alors que l'atteinte ischémique de la rétine serait plus liée aux conditionnements avec busulfan et cyclophosphamide.

E.3.3.2. Complications endocriniennes :

➤ **Croissance :**

Le retard de croissance avec ou sans déficit en hormone de croissance et le risque de réduction de la taille finale sont secondaires à de multiples éléments dont l'état nutritionnel fréquemment altéré, l'âge < 10 ans au moment de la greffe, l'insuffisance gonadique sinon substituée, l'irradiation corporelle totale myéloablative, l'irradiation cérébrospinale (risque de déficits hormonaux antéhypophysaires ou au contraire de puberté précoce centrale post-radique avec taille finale compromise), l'hypothyroïdie et la corticothérapie prolongée.

Il est donc essentiel qu'un suivi de la croissance staturo-pondérale soit effectué (taille, poids et l'indice de masse corporelle) ainsi qu'une évaluation du stade pubertaire. La poussée de croissance péri-pubertaire est un moment clé car c'est souvent à ce moment-là que le déficit de taille apparaît ou s'aggrave. En cas de facteurs de risque identifiés, il semblerait souhaitable qu'un suivi en endocrino-pédiatrie soit organisé d'emblée. En période péri-pubertaire, une évaluation au moins annuelle devrait être réalisée.

➤ **Gonades :**

❖ **Insuffisance gonadique :**

Une insuffisance gonadique centrale (insuffisance gonadotrope) ou périphérique (insuffisance ovarienne prématurée, parfois encore appelée ménopause précoce) constitue chez la femme une complication fréquente après greffe de cellules souches hématopoïétiques.

Cette insuffisance gonadique revêt des conséquences en termes de carence hormonale et d'infertilité. Gurgan et ses collaborateurs décrivent que la chimiothérapie et la radiothérapie réduisent les follicules et favorisent l'atrophie ovarienne. La conséquence principale est de favoriser un état de pré-ménopause. Même si la patiente garde des cycles normaux, cet état de pré-ménopause s'accompagne d'une baisse des réserves en follicules.

A l'adolescence, le diagnostic repose sur la stagnation de la taille et l'absence d'apparition des caractères sexuels secondaires. Chez la femme ou l'homme adulte, des bouffées vasomotrices sont possibles si l'origine de l'insuffisance gonadique est périphérique, ainsi qu'une atténuation de la pilosité, des troubles de la libido, une disparition des menstruations ou une dysfonction érectile. Les signes sont généralement peu marqués chez l'homme. Il convient de s'assurer de l'absence d'autres étiologies telles qu'une aménorrhée hypothalamique ou un syndrome des ovaires polykystiques.

A l'heure actuelle, pas de consensus pour la prévention quels que soient l'âge et le sexe. Concernant la prise en charge :

- **Femme** : Une évaluation ovarienne biologique par dosage de la FSH et de l'œstradiol peut être envisagée, mais elle n'est pas obligatoire si à l'aménorrhée s'associent des bouffées vasomotrices. Une hormonothérapie est recommandée jusqu'à l'âge physiologique de la ménopause et doit être adaptée en fonction des risques cardiovasculaires. Compte tenu des cas complexes cumulant plusieurs facteurs de risque, une consultation spécialisée dite « de contraception difficile » est recommandée. Une surveillance gynécologique annuelle est indispensable notamment du fait de l'augmentation du risque de cancer mammaire. Un frottis vaginal est recommandé au minimum tous les trois ans après l'âge de 21 ans.

- **Homme** : Devant le peu de signes spécifiques cliniques, il convient de faire un dosage de testostérone, de SBP (Sex-Binding Protein), de FSH et de LH, à un an. En cas de déficit, il convient d'envisager une consultation spécialisée.

- **Enfant** : Il paraît indispensable que le suivi et l'évaluation soient réalisés par un endocrinologue pédiatre à la période pré-pubère (de l'âge de dix ans) et à l'adolescence [158].

❖ **Préservation de la fertilité :**

Afin d'améliorer la préservation et le suivi de la fertilité et du fait des difficultés à pouvoir réaliser des prélèvements ovariens ou testiculaires en pré-greffe, il faudrait suivre les recommandations de l'Agence de biomédecine et sensibiliser les équipes en amont de la greffe. Pour atténuer le risque d'échec de préservation, il semble souhaitable de pouvoir organiser une consultation avec un médecin de la fertilité dès la période pré-greffe. En post-greffe, une consultation en andrologie dès que l'âge le permet pourra être envisagée afin de discuter de la nécessité de réaliser un spermogramme après 18 ans. Pour les filles, un suivi de l'hormone anti-müllérienne (HAM ou AMH) et de l'échographie pelvienne permettra une surveillance du volume ovarien et un comptage folliculaire [157].

➤ **Thyroïde :**

L'hypothyroïdie survient chez 50% des patients après irradiation. Les nodules thyroïdiens surviennent chez 20% des patients à 20 ans d'une irradiation. Selon une étude rétrospective européenne concernant 69000 patients en post-allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, le risque de cancer thyroïdien à type de carcinome papillaire est 3 fois plus élevé que dans la population générale. Les patients ayant eu une irradiation thyroïdienne, aux antécédents familiaux de dysthyroïdie et les femmes sont plus à risque de développer cette complication. Ce risque est élevé dans les 5 ans après l'irradiation et persiste après plusieurs décennies nécessitant une surveillance très prolongée, annuelle. Outre la recherche de signes fonctionnels, la palpation cervicale et les dosages en TSH et T4 libre annuellement, il sera nécessaire de réaliser un contrôle de l'échographie thyroïdienne et ce à vie si les patients ont eu une irradiation cervicale au cours de leur traitement [157].

➤ **Syndrome métabolique :**

Il est défini par la présence de 3 sur 5 des critères suivants :

- Elévation du tour de taille (≥ 102 cm chez l'homme, ≥ 88 cm chez la femme);
- Diminution du taux de HDL cholestérol (<1mmol/L chez l'homme, <1,3mmol/L chez la femme);

- Elévation du taux de triglycérides (≥ 2 mmol/L ou traité); \geq élévation de la glycémie à jeun (≥ 1 g/L ou traitée);
- Hypertension artérielle (systolique ≥ 130 mmHg et/ou diastolique ≥ 85 mmHg chez un adulte et/ou traitée).

Ces perturbations pouvant entraîner, entre autres, une intolérance au glucose, un diabète de type 2 et des maladies cardiovasculaires. En pratique, on proposera une surveillance annuelle de la tension artérielle, du poids et le dosage des triglycérides, HDL-LDL-cholestérol et glycémie.

E.3.3.3. Complications malignes :

➤ Syndromes lymphoprolifératifs post-transplantation :

Les lymphomes B post-transplantation surviennent précocement, en moyenne 5 à 6 mois après la greffe. Ces lymphomes sont pour la plupart développés à partir de cellules du donneur et sont associés au virus d'Epstein-Barr (EBV). Les facteurs de risques retrouvés pour la survenue de cette complication sont l'existence de différences dans le système HLA, la déplétion en lymphocytes T du greffon, l'utilisation de sérum antilymphocytaire et l'utilisation d'anti-CD3. Le traitement précoce par anticorps monoclonal dirigé contre les lymphocytes B a considérablement amélioré le pronostic de cette complication.

➤ Tumeurs solides :

Parmi les tumeurs solides post-allogreffes : glioblastomes, mélanomes, carcinomes épidermoïdes, adénocarcinomes, etc.) .Ils surviennent dans un délai médian de 4 à 6 ans après la greffe. Dans des études, l'irradiation corporelle totale ne semblait pas être un facteur de risque de la survenue d'une tumeur solide, contrairement à d'autres études publiées ultérieurement. Ainsi, plusieurs équipes ont démontré que l'irradiation corporelle totale ou thoraco-abdominale était un facteur de risque pour le développement de tumeurs solides.

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



A. LE CONTEXTE INTERNATIONAL DU DON DE SANG PLACENTAIRE :

A.1. Généralités :

Trois types de politique de conservation de sang de cordon sont en cours dans le monde : les banques publiques, les banques privées, les banques « mixtes ». Une centaine de banques de sang placentaire est recensée dans le monde 40% en Europe, 30% en Amérique du Nord, 20% en Asie et 10% en Australie.

Les trois quarts d'entre elles sont des banques publiques ou privées, à but non lucratif. La conservation du sang placentaire se fait pour réaliser trois applications : La greffe allogénique, les travaux de recherche et la greffe intra-familial dans certains contextes particuliers. Les 25% restants sont des banques privées commerciales à but lucratif, qui conservent le sang placentaire dans un but autologue contre une rétribution financière versée par les parents. La réglementation et l'organisation des banques de sang placentaire sont contrôlées par les instances internationales et européennes, puis par les instances gouvernementales de chaque état. L'évolution des stocks internationaux d'USP, selon le rapport médical et scientifique du prélèvement et de la greffe en France réalisé par l'agence de biomédecine, est indiquée dans le tableau VII : [159-162]

Dates	Nombre d'USP	Nombre de donneurs inscrits sur l'ensemble des registres internationaux
31 décembre 2011	530 708	19,5 millions
31 décembre 2012	557 184	20,8 millions
31 décembre 2013	601 000	22,6 millions
31 décembre 2014	632 522	25 millions

Tableau VII : L'évolution des stocks internationaux d'USP.

A.1.1. Les instances internationales :

La World Marrow Donor Association (WMDA) :

Une organisation non lucrative, fondée en 1988 et regroupe des registres des donneurs de CSH, des banques de sang placentaire, diverses organisations, ainsi que des particuliers impliqués dans la greffe des CSH.

Elle établit des procédures pour la greffe de CSH, et s'intéresse aujourd'hui à la définition et la standardisation des aspects éthiques, financiers, techniques et médicaux de la greffe de CSH, incluant désormais la greffe d'USP. La WMDA défend les principes de don altruiste, anonyme et gratuit. La WMDA recense également les événements indésirables qui surviennent lors des greffes allogéniques d'USP, pour les répertorier ensuite dans un registre *spécifique qui permet d'établir des recommandations disponibles sur le site WMDA [163]*.

La Bone Marrow Donors Worldwide (BMDW) :

Il s'agit d'une collaboration volontaire entre des registres de donneurs de CSH et des banques de sang placentaire, établi en 1988 aux Pays –Bas, dont la finalité est de fournir des informations centralisées et anonymes sur les types HLA et autres données pertinentes relatives à des donneurs de CSH et des USP à visée allogénique. Tous les registres d'USP qui participent au BMDW sont tenus de se conformer aux lignes directrices de la WMDA. La base de données BMDW, mise à jour mensuellement, regroupe les données accessibles en ligne sous forme cryptée pour les registres et les centres autorisés [163].

L'International Society for Cellular Therapy (ISCT) :

Une société savante non lucrative, fondée en 1992, représentant des scientifiques et des médecins travaillant dans le domaine de la greffe de CSH.

Ses champs d'applications sont le sang placentaire, l'expansion cellulaire ex vivo, les cellules dendritiques et l'immunothérapie, les CSM, la greffe l'évaluation des tumeurs et les affaires réglementaires. Elle constitue un forum global d'éducation et de communication.

🇺🇸 La Foundation for the Accreditation of Cell Therapy (FACT) et NetCord :

➤ **La Foundation for the Accreditation of Cell Therapy (FACT):**

Une organisation américaine non lucrative co-fondée en 1994 par l'ISCT et l'American Society of Blood and Marrow Transplantation. Son but est la garantie de la qualité des soins et des techniques de laboratoire dans le domaine de la thérapie cellulaire, incluant la collecte des USP.

➤ **L'organisation internationale NetCord :**

Organisation internationale à but non lucratif, fondée en 1998 aux Pays-Bas, promeut les greffes allogéniques de sang placentaire avec l'objectif de corrélérer l'offre et la demande d'USP dans le monde. Elle accrédite les banques de sang placentaire, qui respectent les normes de qualité qu'elle a instaurées avec FACT.

Afin d'améliorer la sélection des USP par les centres de greffes, NetCord a mis au point un outil de recherche en ligne, ce qui facilite l'accès à l'ensemble des données des banques reliées à NetCord. Parallèlement, elle participe à des études sur le don, le traitement, la validation biologique, la conservation et l'expansion ex vivo du sang placentaire [163].

A.1.2. Les instances européennes :

🇪🇺 L'european Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) :

Organisme non lucratif fondé en 1974 aux Pays –Bas. Son objectif est de faciliter les collaborations entre les médecins et les scientifiques travaillant sur les greffes de CSH. Cet organisme participe à la promotion de la greffe de CSH au travers de la recherche fondamentale et clinique, de l'enseignement et de l'assurance qualité.

🇪🇺 L'association EuroCord :

Fondée en 1995 pour la gestion et le suivi de l'ensemble des greffes de sang placentaire à l'échelle mondiale, notamment par la création d'un registre européen des patients ayant reçu une greffe de sang placentaire. Cette collaboration entre les organismes de différents pays

européens est soutenue par la communauté européenne via l'EBMT. Cette association a pour objet de favoriser la promotion des recherches scientifiques académiques ou industrielles, le développement des applications thérapeutiques et la diffusion des connaissances relatives aux annexes embryonnaires (dont le placenta et le cordon ombilical), et plus généralement à tout ce qui relève du domaine fœto-maternel.

🚩 Le comité d'accréditation Joint Accreditation CommIttEe (JACIE) :

Il a été mis au point en 1999 au niveau européen par l'EBMT et l'ISHAGE. Il est basé sur les standards définis par la FACT et a été initialement conçu pour les banques de CSH issues de moelle osseuse ou de sang périphérique, leur utilisation et leur transfert, mais il peut aussi être appliqué aux banques d'USP. L'accréditation est délivrée par le comité JACIE sur la base de procédures écrites et d'inspections de sites [163].

A. Avancées dans l'allogreffe d'USP :

Les premières allogreffes de CS, réalisées avec une seule USP, étaient réservées aux enfants ou aux jeunes adultes. Pour les adultes, la prise de greffe était médiocre et la mortalité non liée à la rechute était élevée, liée à la faible richesse en cellules souches de l'USP par rapport au poids du receveur. Afin d'augmenter la richesse en CN plusieurs procédures ont été développées.

B.1. Double allogreffe d'USP :

En 2005, Barker et ses collaborateurs ont démontré que des USP provenant de deux donneurs différents (double USP) pouvaient être greffées chez un même patient. Les doubles allogreffes d'USP, permettent de remédier aux faibles doses de CNT contenues dans les USP. Elles induisent une bonne prise de greffe, un faible taux de mortalité et une survie similaire à ceux observés après une allogreffe de CSH provenant des autres sources.

De plus, la double allogreffe d'USP semble diminuer le risque de rechute et potentialiser l'effet GvL par rapport à une simple allogreffe. Les doubles allogreffes d'USP sont donc une alternative de choix chez les patients atteints d'hémopathies malignes, pour lesquels aucun donneur de MO et aucune USP contenant un nombre suffisant de CNT n'ont pu être trouvés. Elles permettent d'augmenter la dose de CSH administrées et donc d'élargir les indications aux adultes de poids supérieur à 50 kg, en association avec un conditionnement myéloablatif ou non.

Vis-à-vis de l'incidence de GvH, l'allogreffe de deux USP, par rapport à une USP, est un facteur de risque d'augmentation de GvH aiguë et chronique. Plusieurs études ont montré une diminution de l'incidence de rechute et une augmentation de la survie sans maladie chez les patients allogreffés avec deux USP comparativement à ceux greffés avec une USP, faisant suspecter un renforcement de l'effet GvL dans les allogreffes de double USP.

Dans les premières semaines suivant les allogreffes de double USP, le chimérisme est souvent mixte ; des cellules des deux USP et du receveur sont détectées. Puis rapidement, en dehors de rare cas, une seule des deux USP devient majoritaire, mais les facteurs déterminants la prise d'une USP par rapport à une autre restent encore flous [79].

B.2.Expansion ex vivo des CSH :

L'expansion ex vivo des USP englobe un certain nombre de techniques de biologie cellulaire, qui visent à accroître le nombre de cellules nucléées des USP ou à modifier le degré de différenciation des CSH contenues dans les USP. Elle consiste en une stimulation de la prolifération de ces cellules, ex vivo, avant injection chez le receveur.

In vivo, la croissance et la prolifération des CSH sont régulées par la production de cytokines et de facteurs de croissance produits par des cellules non hématopoïétiques environnementales, notamment les cellules souches mésenchymateuses CSM.

Actuellement plusieurs techniques d'expansion ex-vivo sont en développement [79]:

🚦 Technique utilisant un liquide de suspension :

Elle consiste à utiliser des milieux de cultures supplémentés en une combinaison de plusieurs cytokines, parmi lesquelles le stem cell factor (SCF), l'IL-3, l'IL-6, le G-CSF, le Flt-3 ou la thrombopoïétine (TPO), facteur de croissance de différenciation plaquettaire. Cet environnement artificiel stimule la multiplication des CSH placentaire [79].

Plusieurs modifications du milieu de culture ont été étudiées : les milieux de culture sans sérum, l'utilisation d'agents capables de moduler la prolifération et la différenciation des CSH (tetraéthylène-pentamine, histone déacétylase) et de maintenir la pluripotence des progéniteurs (inhibiteur du glycogène synthase).

Plus récemment, une méthode utilisant un ligand de Notch-1 au sein du milieu de culture a été développée et testée cliniquement par l'équipe de Delaney et ses collaborateurs. Notch-1 est un récepteur permettant d'augmenter l'auto-renouvellement des CSH.

Une des limites de la méthode d'expansion *ex-vivo* par liquide de suspension est la difficulté à recréer un milieu de culture proche de la situation *in vivo*.

🚦 La mise en culture avec des CSM ou la Co-transplantation CSM/CSH :

Un autre type d'expansion consiste à cultiver les CSH de sang de cordon avec des CSM. En effet, les CSM sont les cellules stromales qui composent, en partie, le microenvironnement des CSH *in vivo*, au sein des niches hématopoïétiques, aussi bien dans la MO que dans le sang de cordon ombilical. En culture, les CSM pourraient donc restaurer les interactions nécessaires à un renouvellement optimal des CSH au sein de leur environnement.

C'est une technique qui consiste à mettre en contact des CSM avec des CSH en présence de cytokines et de facteurs de croissance, pour stimuler la prolifération des CSH. En reproduisant des conditions de cultures plus «naturelles», les scientifiques espèrent une meilleure viabilité des CSH. Les CSM sont recueillies chez un donneur partiellement compatible [79].

Malheureusement, même si chacune de ces méthodes d'expansion a montré des résultats satisfaisants, l'absence d'essais cliniques d'envergure ne permet pas de conclure quant à l'avantage de l'une ou l'autre pour une utilisation en routine clinique.

B.3. Administration intra-médullaire du greffon de sang placentaire :

La réalisation de l'allogreffe se fait par injection du greffon de CSH dans la circulation périphérique au moyen d'un cathéter veineux central. Les cellules progénitrices vont alors circuler dans le système sanguin et se nicher secondairement dans la moelle osseuse. Cependant une partie des CSH va être piégée dans les organes périphériques, diminuant ainsi le nombre de cellules arrivant jusqu'à la moelle osseuse.

Afin de limiter la perte de CSH dans les organes de passage et de raccourcir leur délai de migration au sein de la MO, l'administration intra-osseuse est apparue comme moyen d'optimisation de l'allogreffe de CSH. Cette technique a montré sa faisabilité et son efficacité, notamment sur la rapidité de reconstitution hématologique.

Cette technique permet donc d'envisager une allogreffe chez des patients adultes n'ayant qu'une USP disponible avec une richesse cellulaire faible. L'incidence de GvH est inférieure dans ce cas, et cette diminution soit due à la moindre proportion de lymphocytes T du donneur circulants, diminuant ainsi la réaction allogénique au niveau des organes lymphatiques [163].

Cependant cette technique expose le patient. Elle nécessite d'être réalisée sous anesthésie dans un bloc opératoire. L'injection se fait à l'aide d'un trocart directement dans l'os iliaque postérieur

C.LEGISLATION :

C.1. Le contexte internationale :

Il existe dans la quasi-totalité des pays un statut pour le sang placentaire, qu'il soit considéré comme un médicament, un tissu ou un produit sanguin. S'agissant de sa conservation, deux groupes de pays apparaissent.

🚩 Le premier groupe :

Ce premier groupe de pays réunit l'Allemagne, l'Autriche, le Danemark, les Pays-Bas, la Pologne, le Royaume-Uni, le Canada, les Etats-Unis, quelques pays sud-américains, ainsi que certains pays asiatiques. Ces pays n'ont pas de textes spécifiques concernant le statut des banques de sang placentaire, qui ne requièrent qu'une simple autorisation administrative. Il co-existe donc dans ces pays des banques publiques et privées, avec l'émergence récente des banques mixtes [163].

🚩 Le second groupe :

Dans le second groupe (Belgique, Italie, Espagne, Chine, Inde, Vietnam), les pays ont plus au moins statué sur les banques de sang placentaire. Les banques privées étaient interdites au départ. Dans certains de ces pays, la situation évolue progressivement vers une relative tolérance des banques privées, à condition qu'elles se soumettent à certaines obligations. Ainsi, en 2006, un décret royal a fait cesser en Espagne l'interdiction des banques privées, mais elle les contraint à demeurer dans un cadre exclusivement non lucratif. En Italie, la loi permet depuis 2008 l'existence de banques privées, même si les décrets d'application ne sont pas parus à ce jour. En Belgique, règne actuellement un vide juridique sur le statut des banques, ce qui a permis l'implantation d'une banque privée. Ce groupe de pays assouplit progressivement sa réglementation pour autoriser de manière contrôlée l'exercice de banques privées à des fins personnelles [163].

C.2. Législation Française :

Avant la révision de la loi de bioéthique de 2011, le sang de cordon était considéré comme un simple déchet anatomique sans statut juridique, mais il était déjà prélevé et donc utilisé avec une valeur économique importante. Suite à l'adoption de cette loi, ce sang a maintenant un statut équivalent à celui du sang circulant, donc un statut juridique avec la conformation de son utilité en termes scientifiques et un réel potentiel économique.

En France, le don de sang placentaire est donc soit allogénique soit intrafamilial, toute autre utilisation de ces cellules étant illégale. Selon le Code de la Santé Publique, article L1241-1, modifié par la loi de Bioéthique de 2011, le prélèvement de ces cellules hématopoïétiques du sang de cordon et du sang placentaire ainsi que de cellules du cordon et du placenta ne peut être effectué qu'à des fins scientifiques ou thérapeutiques, en vue d'un don anonyme et gratuit, et à la condition que la femme, durant sa grossesse, ait donné son consentement par écrit au prélèvement et à l'utilisation de ces cellules, après avoir reçu une information sur les finalités de cette utilisation. Ce consentement est révocable tant que le prélèvement n'est pas intervenu.

En 2009, les professionnels de la naissance se sont associés à la société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire et à la Société Française d'Hématologie pour s'opposer au développement des sociétés à but lucratif. Certaines banques privées de sang, venues d'autres pays européens, tentent de s'installer en France. Dans le monde, elles sont ainsi une dizaine à assurer le prélèvement du sang et sa conservation pendant vingt-cinq ans, pour un usage personnel ou intrafamilial, mais en France cette pratique est illégale puisqu'elle va à l'encontre des dispositions de conservation et de sécurité sanitaire définies par les articles du code de la santé publique, et est punie par le code pénal.

En revanche, les professionnels de la naissance et les hématologues pensent indispensable de promouvoir le don de ces cellules souches de cordon à visée altruiste, pour permettre la réalisation des greffes allogéniques dont le nombre et l'efficacité augmentent. Ces greffes allogéniques ont largement démontré, depuis des années, qu'elles permettent de sauver des vies. Pour répondre aux véritables besoins de santé publique, l'un des enjeux est de développer le réseau maternités associées aux banques publiques de sang de cordon, existantes et à venir.

D.ROLE DU PHARMACIEN :

Les pharmaciens ont un rôle très important dans la préparation et la délivrance des médicaments, la sécurité et l'organisation pratique des traitements des patients allogreffés.

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

Le pharmacien doit participer activement à toute campagne de mobilisation pour le don de cellules souches hématopoïétiques en mettant en avant des grandes affiches thématiques pour relayer l'information.

La greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques est actuellement en phase de mutation importante et rapide. L'allogreffe demeure, le seul traitement curatif d'un certain nombre de pathologies déficitaires constitutionnelles du tissu hématopoïétique. Elle reste le traitement éradicateur de plusieurs maladies hématologiques malignes et garde cette place dans l'arsenal thérapeutique même si dans certains cas, la leucémie myéloïde chronique par exemple, l'avènement de nouvelles molécules peut modifier notablement le délai de sa mise en œuvre.

Conclusion



Le rôle grandissant de la fonction immunothérapeutique du greffon allogénique et la réduction de l'intensité des conditionnements pré-greffe vont permettre à un nombre croissant de malades d'accéder à ce type de traitement. Les possibilités nouvelles d'immunosuppression et la qualité de la prévention anti-infectieuse, le développement des nouvelles sources de CSH, les progrès des connaissances en matière d'induction de tolérance vont autoriser, dans certaines conditions, à s'affranchir relativement de la compatibilité HLA entre donneur et receveur.

La greffe de cellules souches hématopoïétiques apporte une démonstration de la faisabilité de principe du remplacement d'un organe par des cellules souches.

Les domaines thérapeutiques dans lesquels les perspectives d'utilisation de la thérapie cellulaire sont nombreuses : hématologie, dermatologie, rhumatologie, oncologie, ophtalmologie, neurologie, cardiologie, hépatologie. C'est le cas par exemple des cellules nerveuses spécialisées utilisées pour traiter la maladie de Parkinson ou d'Alzheimer, des cellules produisant de l'insuline (Îlots de Langerhans) pour soigner le diabète ou encore les cellules souches du muscle cardiaque pour le traitement de l'infarctus du myocarde et l'insuffisance cardiaque.

Enfin, il est important de rappeler que la réalisation des allogreffes peut se faire grâce aux donneurs volontaires compatibles avec le receveur, qui sont inscrits sur les registres de donneur de moelle osseuse, de cellules souches périphériques et de sang de cordon. Pour avoir le plus de chance possible de trouver un donneur compatible, il faut avoir le registre de donneur le plus grand possible. Chacun peut effectuer les démarches pour devenir donneur, et chacun peut avoir un jour besoin d'une greffe.

Résumé



RESUME

Titre : Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

Auteur: Nadia Berramou

Mots clés: Cellules souches hématopoïétiques, moelle osseuse, sang circulant, sang de cordon, greffe allogénique.

Les cellules souches hématopoïétiques sont à la fois capables de s'auto-renouveler et de donner naissance à tous les types de cellules sanguines matures.

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques a beaucoup évolué depuis ses origines, multipliant les sources cellulaires utilisables (moelle osseuse, cellules souches périphériques, sang placentaire), les donneurs mobilisables (intrafamiliaux, non apparentés, totalement ou partiellement compatibles).

L'allogreffe des cellules souches hématopoïétiques constitue une thérapeutique importante et efficace pour beaucoup d'hémopathies malignes, hémopathies bénignes sévères telles que les aplasies médullaires congénitales ou acquises, les hémoglobinopathies ou encore les déficits immunitaires sévères et certaines maladies de surcharge.

Dans un protocole de greffe, le patient devra subir un conditionnement par chimiothérapie plus ou moins myéloablatif avant de lui greffer les cellules souches d'un donneur et qui sont recueillies au préalable. Elle s'accompagne d'une morbidité et d'une mortalité secondaire due à la réaction du greffon contre l'hôte et au déficit immunitaire post greffe ; l'incidence de ces complications infectieuses ou non infectieuses dépendent à la fois de paramètres propres au receveur et des modalités de la greffe (compatibilité HLA entre le donneur et le receveur).

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

ABSTRACT

Title: Hematopoietic stem cell allografting

Author: Nadia Berramou

Key words: Hematopoietic stem cells, Bone Marrow, Circulating Blood, Cord Blood, allografting,

The hematopoietic stem cells are capable of self-renewal to give rise to all the types of mature blood cells.

Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation, has dramatically changed over the years since its beginning, multiplying the cellular sources used (bone marrow, peripheral stem cells, placental blood), donor types (intrafamilial, nonrelated, totally or partially compatible),

Allografting Hematopoietic stem cell is an important and effective treatment for most of the malignant hemopathies, severe benign hemopathies such as congenital or acquired medullary aplasia, Hemoglobinopathies, as well as severe immune system deficiencies and certain overload diseases,

The Graft protocol declares that the patient should have to undergo a conditioning by chemotherapy more or less myeloablative before graft the stem cells of a donor and which are collected as a preliminary. It is accompanied by high morbidity and mortality due to secondary graft against the host immune deficiency and post-transplant, the incidence of these complications infectious or not infectious depends on both parameter specific to the recipient and the terms of the graft (HLA compatibility between donor and recipient).

As a health professional, the pharmacist must play a part of information near their patients in order to sensitize and to advise them in the event of gifts or graft.

ملخص

-عنوان الأطروحة : الزرع الخيفي للخلايا الجذعية الدموية

-المؤلف : برامو نادية

-الكلمات الرئيسية: الخلايا الجذعية الدموية، نخاع العظم، الدورة الدموية، دم الحبل السري، زرع خيفي .

الخلايا الجذعية الدموية قادرة على حد سواء على التجديد الذاتي كما أنها تعطي جميع أنواع خلايا الدم الناضجة. لقد تطور الزرع الخيفي للخلايا الجذعية الدموية عما كان عليه من قبل ، وذلك بتعدد المصادر الخلوية المستخدمة (نخاع العظم، الخلايا الجذعية المحيطية ، دم الحبل السري)، وكذا الجهات المانحة (المعطي) (داخل الأسرة، أو خارجها ، متوافقة كلياً أو جزئياً).

يعتبر الزرع الخيفي للخلايا الجذعية الدموية علاجاً هاماً وفعالاً لكثير من الأورام الدموية الخبيثة، وأمراض الدم الحميدة مثل اللاتنسج النقوي الخلفي أو المكتسب، وأمراض الخضاب الدموي أو نقص المناعة الحاد وكذلك بعض أمراض التخزين .

ينص بروتوكول الزرع على إخضاع المريض لتكييف عن طريق العلاج الكيميائي وذلك قبل زرع الخلايا الجذعية للمعطي والتي يجب استخراجها من قبل. إن زرع هذه الخلايا الدموية تصاحبه بعض الأمراض أو الوفيات الناجمة عن تفاعلات الجسم مع المتلقي ونقص المناعة عقب الزرع . إن هذه المضاعفات مرتبطة بحالة المتلقي وكذا نوعية الزرع (توافق جزيئات HLA بين المتبرع و المتلقي).

إن الصيدلي، باعتباره إطاراً صحياً مهنيًا، مدعو إلى القيام بدور تحسيبي وتوعوي تجاه المرضى سواء في حالة التبرع أو في حالة الزرع.

Références bibliographiques



- [1] **Loberiza R, Serna DS, Horowitz MM, Rizoo JD** . Transplant centre characteristics and clinical outcomes after hematopoietic stem cell transplantation: what do we know. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31(6):417-21.
- [2] **Poirier J**. Atlas histologie moléculaire, Texte et Atlas. Masson édition, Paris ; 1999.
- [3] **Evans MJ, Kaufman MH**. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 1981; 292:154–6.
- [4] **Reubinoff BE, Pera MF, Vajta G, Trounson AO**. Effective cryopreservation of human embryonic stem cells by the open pulled straw vitrification method. *Hum Reprod* 2001; 16:2187–94.
- [5] **Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al**. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282:1145–7.
- [6] **Krebsbach PH, Robey PG**, Dental and skeletal stem cells: potential cellular therapeutics for craniofacial regeneration, *J. Dent. Educ.* 2002; 66: 766–773.
- [7] **Ashleigh S, Yasuyuki H , Kathryn J** Transplanting stem cells: Potential targets for immune attack. Modulating the immune response against embryonic stem cell transplantation. *Adv Drug Deliv Rev.* 2005; 57(13): 1944-69.
- [8] **Vincent G. Cellules ES**, clonage thérapeutique et clonage reproductif discussion et discernement bioéthique. *Science & culture.* 2006 ; 401.
- [9] **Gudjonsson T, Magnusson MK**. Stem cell biology and the cellular pathways of Wcarcinogenesis. *Molecular and Cell Biology.* 2005; 113(11-12): 922-9.
- [10] **Reyftmam L, Dechaud H, Hamamah S, Pucéat M, Hédon B**. Cellules souches fœtales et du sang du cordon ombilical ; une place pour le gynécologue obstétricien. *Gynécologie obstétrique & fertilité.* 2004; 32: 969-975.
- [11] **Haoulia N**. l’interdiction de la recherche sur l’embryon et les cellules souches au régime d’autorisation sous condition : brèves remarques sur la protection de la vie humaine dans la loi no 2013-715 du 6 août 2013. Paris :Méd droit ; 2014.

- [12] **Coulombel L.** Cellules souches : un seul nom pour de multiples entités T. Revue francophone des laboratoires. 2010 - N°427 : 29–39.
- [13] **Angelo L, Vescovi A, Eugenio A, Parati, Angela G, Paule P et al.** Isolation and cloning of multipotential stem cells from the embryonic human CNS and establishment of transplantable human neural stem cell lines by epigenetic stimulation. *Experimental Neurology* .1999 ; 156: 71-83
- [14] **Shamblott MJ, Axelman J, Wang S, Bugg EM, Littlefield JW, Dono-van PJ, et al.** Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(23):13726–31.
- [15] **Shamblott MJ, Axelman J, Littlefield JW, Blumenthal PD, Huggins GR, Cui Y, et al.** Human embryonic germ cell derivatives express a broad range of developmentally distinct markers and proliferate extensively in vitro. *Proc Natl AcadSci USA* 2001;98(1):113–8.
- [16] **Reyftmann L.** Isolement de cellules souches embryonnaires germinales EG humaines: aspects gynécologiques [Thèse].Médecine Université Montpellier : France ;2003.
- [17] **Bourin P, Gadelorge M.** Les espoirs des cellules souches mésenchymateuses en médecine régénérative. *Transfusion clinique et biologiques*. 2007 ; 14 : 120-126.
- [18] **Colombel L.** Cellules souches adultes ; intérêt scientifique et avenir thérapeutique. *Gynécologie obstétrique & fertilité*. 2007 ; 35 : 806-810.
- [19] **Ulloa-Montoya F, Verfaillie CM.** Culture systems for pluripotent stem cells. *J. Biosci. Bioeng.* 2005 ;100(1), 12-27.
- [20] **Verfaillie C, Lakshmipathy U .** Stem cell plasticity. *Blood Rev.*2005 ;19, 29-38.
- [21] **Gargett CE.** Uterine stem cells: what is the evidence? *Hum. Reprod. Update*, 2007;13(1),87-101.
- [22] **Yin T, Li L.** The stem cell niches in bone. *J Clin Invest* 2006; 116:1195–201.

- [23] **Roubeix C, Denoyer A, Brignole-Baudouin F, Baudouin C.** Thérapie cellulaire par cellules souches mésenchymateuses, un nouvel espoir pour les pathologies oculaires. *Journal français d'ophtalmologie* 2015; 38, 764—775
- [24] **Friedenstein AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN.** Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Exp Hematol* 1976;4:267–74.
- [25] **Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Latsinik NV, Panasyuk AF, Keiliss-Borok IV.** Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hemopoietic tissues. Cloning in vitro and retransplantation in vivo. *Transplantation* 1974;17(4):331-340.
- [26] **Caplan AI.** Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res* 1991;9(5):641-650.
- [27] **Meirelles L, Chagastelles PC, Nardi NB.** Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs. *J Cell Sci* 2006;119(Pt 11):2204-2213.
- [28] **Kuhn NZ, Tuan RS.** Regulation of stemness and stem cell niche of mesenchymal stem cells: implications in tumorigenesis and metastasis. *J Cell Physiol* 2010;222(2):268-277 .
- [29] **Friedenstein AJ, Petrakova KV, Kurolesova AI, Frolova GP.** Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues. *Transplantation* .1968;6:230-47.
- [30] **Oswald J, Boxberger S, Jorgensen B, Feldmann S, Ehninger G, Bornhäuser M, Werner C.** Mesenchymal stem cells can be differentiated into endothelial cells in vitro. *Stem Cells* 2004;22:377-84.
- [31] **Kotton DN, Ma BY, Cardoso WV.** Bone marrow-derived cells as progenitors of lung alveolar epithelium. *Development* 2001;128:5181-8.
- [32] **Schwartz RE, Reyes M, Koodie L, Jiang Y, Blackstad M, Lund T, et al.** Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells. *J Clin Invest* 2002;109:1291-302.

- [33] **Sanchez-Ramos J, Song S, Cardozo-Pelaez F, Hazzi C, Stedeford T, Willing A, et al.** Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro. *Exp Neurol* 2000;164:247-56.
- [34] **Chen SL, Fang WW, Ye F, Liu YH, Qian J, Shan SJ, et al.** Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2004;94:92–5.
- [35] **Katritsis DG, Sotiropoulou PA, Karvouni E, Karabinos I, Korovesis S, Perez SA, et al.** Transcoronary transplantation of autologous mesenchymal stem cells and endothelial progenitors into infarcted human myocardium. *Catheter Cardiovasc Interv* 2005;65:321–9.
- [36] **Venkataramana NK, Kumar SK, Balaraju S, Radhakrishnan RC, Bansal A, Dixit A, et al.** Open-labeled study of unilateral autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation in Parkinson's disease. *Transl Res* 2010;155:62–70.
- [37] **Bernardo ME, Locatelli F, Fibbe WE.** Mesenchymal stromal cells. *Ann N Y Acad Sci* 2009;1176:101-17.
- [38] **Battula VL, Bareiss PM, Treml S, Battula VL, Bareiss PM, Treml S, et al.** Human placenta and bone marrow derived MSC cultured in serum-free, b-FGF-containing medium express cell surface frizzled-9 and SSEA-4 and give rise to multilineage differentiation. *Differentiation* 2007; 75:279-91.
- [39] **Chamberlain G, Fox J, Ashton B, et al.** Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing. *Stem Cells* 2007; 25(11):2739-2749.
- [40] **Krampera M, Cosmi L, Angeli R, et al.** Role for interferon-gamma in the immunomodulatory activity of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2006;24:386–98.

- [41] **Le Blanc K, Ringden O.** Immunomodulation by mesenchymal stem cells and clinical experience. *J Intern Med.* 2007; 262:509-525.
- [42] **Nauta AJ, Fibbe WE.** Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood.* 2007;110:3499-3506.
- [43] **Glennie S, Soeiro I, Dyson PJ, Lam EW, Dazzi F.** Bone marrow mesenchymal stem cells induce division arrest anergy of activated T cells. *Blood.* 2005;105:2821-2827.
- [44] **Jiang XX, Zhang Y, Liu B ,Zhang SX, Wu Y, Yu XD et al.** Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells. *Blood.* 2005;105:4120-4126.
- [45] **Sotiropoulou PA, Perez SA, Gritzapis AD, Baxevanis CN, Papamichail M.** Interactions between human mesenchymal stem cells and natural killer cells. *Stem Cells.* 2006;24:74-85.
- [46] **Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, Götherström C, Hassan M, Uzunel M, et al.** Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet.* 2004;363:1439-1441.
- [47] **Yanez R, Lamana ML, Garcia-Castro J , Colmenero I, Ramírez M, et al.** Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells have in vivo immunosuppressive properties applicable for the control of the graft-versus-host disease. *Stem Cells.* 2006;24:2582-2591.
- [48] **Dazzi F, Ramasamy R, Glennie S, Jones SP, Roberts I.** The role of mesenchymal stem cells in haemopoiesis. *Blood Rev* 2006;20:161–71
- [49] **Till JE. et McCulloch EA.** "A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells." *Radiat Res* 1961;14: 213-22.
- [50] **Dexter TM, Allen TD, Lajtha LG.** "Conditions controlling the proliferation of haemopoietic stem cells in vitro." *J Cell Physiol* 1977 ;91(3): 335-44.

- [51] **Cohen J, Gorin NC**. Cellules souches [en ligne]. Encyclopædia Universalis, consulté le 5 mars 2016. URL : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/cellules-souches/>
- [52] **MARTIN P, AULAGNER G**. La greffe de cellules souches hématopoïétiques. Actualités pharmaceutiques hospitalières, 2009, vol 5, n°20, p. 16-28.
- [53] **Thillay C**. La greffe de sang de cordon : une nouvelle pratique en obstétrique. Mémoire de sage-femme : Université de Nantes, 2007, 60 p.
- [54] **Jones DL, Wagers AJ**. No place like home: anatomy and function of the stem cell niche. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008;9:11-21.
- [55] **Fernandes A**. Hématopoïèse [En ligne]. Faculté de science université de Portugal [06-04-2016] Disponible à l'URL : <http://knoww.net/fr/sciences-terre-vie/biologie/hematopoiese/>
- [56] **Morrison SJ, Scadden DT**. The bone marrow niche for haematopoietic stem cells. *Nature*, 2014; 505(7483), 327-334.
- [57] **Li L et Xie T**, *Stem cell niche: structure and function*. 2005. 21:605-631
- [58] **Tong Y, Linheng Li**. The stem cell niches in bone. *J Clin Invest*, 2006; 116(5): p. 1995-2001.
- [59] **Calvi LM, Adams GB, Weibrecht KW, Weber JM, Olson DP, Knight MC, et al**. Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche. *Nature* 2003.;425(6960): 841-846.
- [60] **Zhang J1, Niu C, Ye L, Huang H, He X, Tong WG et al**. Identification of the haematopoietic stem cell niche and control of the niche size. *Nature*. 2003; 425(6960): 836-841.
- [61] **Arai F, Hosokawa K, Toyama H, Matsumoto Y, Suda T**. Role of N-cadherin in the regulation of hematopoietic stem cells in the bone marrow niche. *Ann N Y Acad Sci*. 2012; 1266, 72-77.

-
- [62] **Wilson A, Murphy MJ, Oskarsson T, Kaloulis K, Bettess MD, Oser GM et al.** c-Myc controls the balance between hematopoietic stem cell selfrenewal and differentiation. *Genes Dev.* 2004;18(22), 2747-2763.
- [63] **Kiel MJ, Acar M, Radice GL, Morrison SJ .** Hematopoietic stem cells do not depend on N-cadherin to regulate their maintenance. *Cell Stem Cell.* 2009; 4(2), 170-179.
- [64] **Wilson, A, Trumpp A.** Bone-marrow haematopoietic-stem-cell niches. *Nat Rev Immunol.* 2006; 6(2), 93-106.
- [65] **Kopp HG, Avecilla ST, Hooper AT,Rafii S.**The bone marrow vascular niche: home of HSC differentiation and mobilization. *Physiology*, 2005. 20: p. 349-356.
- [66] **Sugiyama T, Kohara H, Noda M, Nagasawa T.** Maintenance of the hematopoietic stem cell pool by CXCL12-CXCR4 chemokine signaling in bone marrow stromal cell niches. *Immunity*, 2006;25(6), 977-988.
- [67] **Fournier M .** Rôle des gènes *HOX* du paralogue 4 dans l'autorenouvellement des cellules souches et progéniteurs hématopoïétiques. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph.D.): Microbiologie et Immunologie : Montréal :2014
- [68] **Morrison SJ, Spradling AC.** Stem cells and niches: mechanisms that promote stem cell maintenance throughout life. *Cell*, ;2008 132, 598-611.
- [69] **Baraud J.** Implication de NRF2 dans le métabolisme oxydatif des cellules leucémiques[Thèse]. Médecine : Biologie médicale : Paris ;2011
- [70] **Binet C, Domenech J, Herault O.** Cellules souches hématopoïétiques :Régulation (rôle du microenvironnement, facteurs de croissance). Université de Tours [en ligne]. 2004 [consulté le 20 mars 2011]. Disponible sur : <http://fmc.med.univ-tours.fr/Pages/Hemato/DES/A2.pdf>
- [71] **Jacob F.** Le monde des cellules souches. *C. R. Biologies.* 2002 ; 325 : 999– 1002.
- [72] **Liao R, Pfister O, Jain M, Mouquet F .** The bone marrow-cardiac axis of myocardial regeneration. *Progr. Cardiovasc. Dis*, 2007; 50(1), 18-30.

-
- [73] **Copelan EA.** Hematopoietic stem-cell transplantation. *N Engl J Med.* 2006;27;354(17):1813–26.
- [74] **Navneet Majhail S, Douglas Rizzo J, Lee S, Aljurf M, Atsuta Y, Bonfim C, et al.** Recommended screening and preventive practices for long-term survivors after hematopoietic cell transplantation. *Hematol Oncol Stem Cell Ther* 2012; 5, 1-30
- [75] **Ljungman P, Bregni M, Brune M, Cornelissen J, De Witte T, Dini G, et al.** Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe 2009. *Bone Marrow Transplant* 2010 Feb; 45(2): 219-234.
- [76] **Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D, Giralt S, Lazarus H, Ho V, et al.** Defining the intensity of conditioning regimens: working definitions. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009 Dec; 15(12): 1628-1633.
- [77] **Sorrer ML, Maris MB, Storer B, Sandmaier BM, Diaconescu R, Flowers C, et al.** Comparing morbidity and mortality of HLA-matched unrelated donor hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative and myeloablative conditioning influence of pretransplantation comorbidities. *Blood* 2004; 104: 961-8
- [78] **Martino R, de Wreede L, Fiocco M, van Biezen A, von dem Borne PA et al.** Comparaison of conditioning regimens of various intensities for allogeneic hematopoietic SCT using HLA-identical sibling donors in AML and MDS with <10% BM blasts: a report from EBMT. *Bone Marrow Transplant* 2013; 48: 761-70.
- [79] **Le Bourgeois A.** Etude des facteurs déterminant la prise de greffe et la prédominance d'une unité de sang placentaire :à partir d'une cohorte nantaise de 77 patients. Thèse pour l'obtention Du diplôme d'état de docteur en Médecine : Hématologie clinique : Nantes : 2014 ; 25 .
- [80] **Chevallier P, Szydlo RM, Blaise D, Tabrizi R, Michallet M, Uzunov M, et al.** Reduced-intensity conditioning before allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients over 60 years: a report from the SFGM-TC. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18: 289-94

- [81] **Passweg JR, Baldomero H, Gratwohl A, Bregni M, Cesaro S, Dreger P et al.** The EBMT activity survey : 1990-2010. *Bone Marrow Transplant* 2012;47:906-923
- [82] Agence de la biomedecine. Le rapport médical et scientifique du prélèvement et de la greffe en France [en ligne], 2012 [consulté le 28 Février 2016].
Disponible sur :
<http://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2012/donnees/cellules/04-national/synthese.htm>
- [83] **Gratwohl A, Baldomero H, Schwendener A, Roche V, Apperley J, Frauendorfer K, et al.** The EBMT activity survey 2007 with focus on allogeneic HSCT for AML and novel cellular therapies. *Bone Marrow Transplant* 2009;43:275—91.
- [84] **Hequet O.** Les différentes modalités de prélèvement des cellules souches hématopoïétiques . *Transfusion Clinique et Biologique* 2011 ; 18, 230—234
- [85] **Bachelet H ,Schmit B, Prud'hon C.** Biopsie de moelle osseuse [En ligne]. 17ème journée nationale sur les dispositifs médicaux, Europharmat. Nantes [cité le 15/02/2016]. Disponible à l'URL:
http://www.europharmat.com/documents/journees_nantes/ateliers_nantes/biopsie/13atelierbiopsienantes.pdf
- [86] **Malfuson JV, Hicheri Y, Bonin P, Rodet M , Boccaccino C , Pautas C et al.** ABO incompatibilité and non myéloablatives allogenic stem transplantation *Transfusion Clinique et Biologique* 14 2007 ;327–333
- [87] **Boccaccio C, Haioun C.** Greffes de cellules souches hématopoïétiques. MASSON,2007, 165 p.
- [88] **Yakoub-agma I.** La greffe de cellules souches hématopoïétiques. Fédération leucémie espoir [en ligne]. 2009 [consulté le 06 février 2011]. Disponible sur :
http://www.leucemie-espoir.org/IMG/pdf/yakoubagmaquimper20091_1_.pdf

- [89] **Solves P, Perales A, Mirabet V, Blasco I, Blanquer A, Planelles D et al.** Optimizing donor selection in a cord blood bank. *Eur J Haematol*, 2004, 72: 107-112.
- [90] **Yang H, Loutfy MR, Mayerhofer S, Shuen P.** Factors affecting banking quality of umbilical cord blood for transplantation. *Transfusion*, 2011 ;51(2):284-92
- [91] **Katz G, Mills A.** Cord blood banking in France: reorganizing the national network. *Transfusion and Apheresis Science* 2010;42: 316-307
- [92] **Veillot E.** Le don de sang de cordon .Mémoire : sages-femmes : Nancy : 2010 .88p
- [93] **Moisan. A** Evaluation du procédé de mise en banque d'unités de sang placentaire à usage thérapeutique au sein de la banque EFS Rhone-Alpes, site de Saint-Ismier. Sciences pharmaceutiques. 2010.
- [94] **Chevallier P, Robillard N, Illiaquer M, Esbelin J, Mohty M, Bodin-Bressollette C, et al.** Characterization of various blood and graft sources: a Prospective series. *Transfusion* 2013; ;53(9):2020-6.
- [95] **Rouard H , Birebent B , Vaquer G , Gautier E.** La collecte de sang placentaire : du concept à la réalité. *Transfusion Clinique et Biologique* 20 2013 ; 95–98
- [96] **Rubinstein P.** Cord blood banking for clinical transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2009;44(10):635–42 .
- [97] **Peffault de Latour R, Purtill D, Ruggeri A, Sanz G, Michel G, Gandemer V, et al.** Influence of nucleated cell dose on overall survival of unrelated cord blood transplant for patients with severe acquired aplastic anemia: a study by EUROCORD and the Aplastic Anemia Working Party of the EBMT. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 17:78–85.

-
- [98] **Rodrigues CA, Sanz G, Brunstein CG, Sanz J, Wagner JE, Renaud M, et al.** Analysis of risk factors for outcomes after unrelated cord blood transplantation in adults with lymphoid malignancies: a study by the Eurocord-Netcord and lymphoma working party of the European group for blood and marrow transplantation. *J Clin Oncol* 2009;27:256–63.
- [99] **Mandel JL, Lathrop M, Cann HM, Dausset J,** 19 October 1916–6 June 2009. *Eur J Hum Genet*, 2009. 17(11): p. 1365-6.
- [100] **Spellman SR, Eapen M, Logan BR, Mueller C, Rubinstein P, Setterholm MI, et al.** A perspective on the selection of unrelated donors and cord blood units for transplantation. *Blood*. 2012 Jul 12;120(2):259–65.
- [101] **Lee SJ, Klein J, Haagenson M, Baxter-Lowe LA, Confer DL, Eapen M, et al.** High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. *Blood*. 2007 Dec 15;110(13):4576–83.
- [102] **Ferrara, JL ,Levine JE, Reddy P, Holler E.** Graft-versus-host disease. *The Lancet*2009; 373 (9674):1550-1561
- [103] **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 Dec 20;24(36):5695–702.
- [104] **Passweg JR, Baldomero H, Gratwohl A, Bregni M, Cesaro S, Dreger P, et al.** The EBMT activity survey: 1990-2010. *Bone Marrow Transplant.* 2012 Jul;47(7):906–23.
- [105] **Nannya Y, Kataoka K, Hangaishi A, Imai Y, Takahashi T, Kurokawa M.** The negative impact of female donor/male recipient combination in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation depends on disease risk. *Transpl. Int.* 2011 May;24(5):469–76.

-
- [106] **George B, Pati N, Gilroy N, Ratnamohan M, Huang G, Kerridge I, et al.** Pre-transplant cytomegalovirus (CMV) serostatus remains the most important determinant of CMV reactivation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in the era of surveillance and preemptive therapy. *Transpl Infect Dis.* 2010 Aug 1;12(4):322–9.
- [107] **Shimoni A, Hardan I, Shem-Tov N, Yeshurun M, Yerushalmi R, Avigdor A, et al.** Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation in AML and MDS using myeloablative versus reduced-intensity conditioning: the role of dose intensity. *Leukemia* 2006; 20: 322-8
- [108] **Andersson BS, de Lima M, Thall PF, Wang X, Couriel D, Korbling M, et al.** Once Daily i.v Busulfan and Fludarabine (i.v Bu-Flu) Compres Favorably with i.v Busulfan and cyclophosphamide (i.v BuCy2) as Pretransplant conditioning therapy in AML/MDS. *Biol Blood and Marrow Transplantation* 2008; 14: 672-684.
- [109] **Kebriaei P, Basset R, Ledesma C, Ciurea S, Parmar S, Shpall EJ, et al.** Clofarabine combined with busulfan provides excellent disease control in adult patients with acute lymphoblastic leukemia undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18: 1819-26.
- [110] **Lee JH, Joo YD, Kim H, Ryoo HM, Kim MK, Lee GW, et al.** Randomised trial of meloablative conditioning regimens: busulfan plus cyclophosphamide versus busulfan plus fludarabine. *J Clin Oncol* 2013; 31:701-9
- [111] **Aoudjhane M, Labopin M, Gorin NC, Shimoni A, Ruutu T, Kolb HJ, et al.** Comparative outcome of reduced intensity and myeloablative conditioning regimen in HLA identical sibling allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for patients older than 50 years of age with acute myeloblastic leukaemia: a retrospective survey. *Leukemia* 2005; 19: 2304-12
- [112] **Lioure B, Béné MC, Pigneux A, Huynh A, Chevallier P, Fegueux N et al.** Early matched sibling hematopoietic cell transplantation for adult AML in first remission using an age-adapted strategy: long-term results of prospecvtive GOELAMS study. *Blood* 2012; 119: 2943-8

- [113] **Giralt S, Ballen K, Rizzo D, Bacigalupo A, Horowitz M, Pasquini M et al.** Reduced-intensity conditioning regimen workshop: defining the dose spectrum. Report of a workshop convened by the center for international blood and marrow transplant research .*Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 15: 367-9
- [114] **Michallet M, le QH , Mohty M , Prébet T, Nicolini F, Boiron JM, et al.** Predictive factors for outcomes after reduced intensity conditionning hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies : a 10-year retrospective analysis from the Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire .*Exp Hematol* 2008;36 : 535-44.
- [115] **Blaise D, Farnault L, F aucher C , Marchetti N, Fürst S, El Cheikh J, et al.** Reduced-intensity conditioning with Fludarabin,oral Busulfan,and thymoglobulin allows long-term disease control and low transplant-related mortality in patients with hematological malignancies. *Exp Hematol* 2010; 38: 1241-50
- [116] Société de Leucémie et Lymphome du Canada. Greffe de cellules souches du sang et de la moelle osseuse. [en ligne]. 2012 [consulté le 28 février 2016]. Disponible sur :
http://www.sllcanada.org/content/nationalcontent/resourcecenter/freeducationmaterials/treatments/pdf/B_M_version_6.pdf
- [117] Fefer. Graft-vs.tumor responses. Thomas' hematopoietic cell transplantation 3rd édition. F.S. Blume KG, Appelbaum FR. Editors, *Blackwell Publishing*. 2004; 369-379
- [118] **Dhédin N, Vernant JP.** Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques : réalisation et complications. EMC Hématologie. 2010.
- [119] **Bleakley M, Riddell SR.** Molecules and mechanisms of the graft-versus-leukaemia effect. *Nat.Rev.Cancer* 2004 ; 4 (5):371-380.

- [120] **Cahn JY , Klein JP, Lee SJ, Milpied N, Blaise D, Antin JH, et al.** Prospective evaluation of 2 acute graft-versus_host(GVHD) grading systems: a joint Societe Francaise de Greffe de Moelle et Therapie Cellulaire (SFGM-TC), Dana Faber Cancer Institute (DFCI),and International Bone Marrow Transpalnt Registry (IBMTR) prospective study. *Blood* 106, 1495-1500 (2005).
- [121] **Xhaard, A. Rocha V, Bueno B, De Latour RP, Lenglet J, Petropoulou , et al.** Steroid-Refractory Acute GVHD: Lack of Long-Term Improved Survival Using New Generation Anticytokine Treatment. *Biology of Blood and Marrow Transplantaion* 18, 406-413 (2012).
- [122] **Kawase T, Morishima Y, Matsuo K, Kashiwase K, Inoko H, Saji H, et al.** High-risk HLA allele mismatch combinations responsible for severe acute graft-versus-host disease and implication for its molecular mechanism. *Blood* 2007 Oct 1; 110(7): 2235-2241.
- [123] **Pidala J, Wang T, Haagenson M, Spellman SR, Askar M, Battiwalla M, et al.** Amino acid substitution at peptide-binding pockets of HLA class I molecules increases risk of severe acute GVHD and mortality. *Blood* 2013 Nov 21; 122(22): 3651-3658.
- [124] **Spierings E, Kim YH, Hendriks M, Borst E, Sergeant R, Canossi A, et al.** Multicenter analyses demonstrate significant clinical effects of minor histocompatibility antigens on GvHD and GvL after HLA-matched related and unrelated hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013 Aug; 19(8): 1244-1253.
- [125] **Miller JS, Cooley S, Parham P, Farag SS, Verneris MR, McQueen KL, et al.** Missing KIR ligands are associated with less relapse and increased graft-versus-host disease (GVHD) following unrelated donor allogeneic HCT. *Blood* 2007 Jun 1; 109(11): 5058-5061.

-
- [126] **Ludajic K, Balavarca Y, Bickeboller H, Rosenmayr A, Fae I, Fischer GF, et al.** KIR genes and KIR ligands affect occurrence of acute GVHD after unrelated, 12/12 HLA matched, hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2009 Jul; 44(2): 97-103.
- [127] **Brennan TV, Lin L, Huang X, Cardona DM, Li Z, Dredge K, et al.** Heparan sulfate, an endogenous TLR4 agonist, promotes acute GVHD after allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2012 Oct 4; 120(14): 2899-2908.
- [128] **Wilhelm K, Ganesan J, Muller T, Durr C, Grimm M, Beilhack A, et al.** Graft-versus-host disease is enhanced by extracellular ATP activating P2X7R. *Nat Med* 2010 Dec; 16(12): 1434-1438.
- [129] **Jankovic D, Ganesan J, Bscheider M, Stickel N, Weber FC, Guarda G, et al.** The Nlrp3 inflammasome regulates acute graft-versus-host disease. *The Journal of experimental medicine* 2013 Sep 23; 210(10): 1899-1910.
- [130] **Zeiser R, Penack O, Holler E, Idzko M.** Danger signals activating innate immunity in graft-versus-host disease. *J Mol Med (Berl)* 2011 ; 89(9): 833-845.
- [131] **Hossain MS, Jaye DL, Pollack BP, Farris AB, Tselanyane ML, David E, et al.** Flagellin, a TLR5 agonist, reduces graft-versus-host disease in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients while enhancing antiviral immunity. *J Immunol* 2011 Nov 15; 187(10): 5130-5140.
- [132] **Duffner UA, Maeda Y, Cooke KR, Reddy P, Ordemann R, Liu C, et al.** Host dendritic cells alone are sufficient to initiate acute graft-versus-host disease. *J Immunol* 2004 Jun 15; 172(12): 7393-7398.
- [133] **Hashimoto D, Chow A, Greter M, Saenger Y, Kwan WH, Leboeuf M, et al.** Pretransplant CSF-1 therapy expands recipient macrophages and ameliorates GVHD after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *The Journal of experimental medicine* 2011 May 9; 208(5): 1069-1082.

-
- [134] **Brissot E** .Implication de l'axe CX3CL1/CX3CR1 dans la physiopathologie de la réaction aiguë du greffon contre l'hôte en allogreffe de cellules souches hématopoïétiques [Thèse].Physiologie et Physiopathologie : Paris : 2014
- [135] **Blazar BR, Murphy WJ, Abedi M**. Advances in graft-versus-host disease biology and therapy. *Nature reviews Immunology* 2012; 12(6): 443-458.
- [136] **Ram R, Gafter-Gvili A, Yeshurun M, Paul M, Raanani P, Shpilberg O**. Prophylaxis regimens for GVHD: systematic review and meta-analysis. *Bone Marrow Transplant*. 2009 Apr;43(8):643–53.
- [137] **Sung AD, Chao NJ**. Concise review: acute graft-versus-host disease: immunobiology, prevention, and treatment. *Stem Cells Transl Med*. 2013 Jan;2(1):25–32.
- [138] **Seguy D, Duhamel A, Rejeb MB, Gomez E, Buhl ND, Bruno B, et al**. Better outcome of patients undergoing enteral tube feeding after myeloablative conditioning for allogeneic stem cell transplantation. *Transplantation*. 2012 Aug 15;94(3):287–94.
- [139] **Seguy D, Berthon C, Micol JB, Darré S, Dalle JH, Neuville S, et al**. Enteral feeding and early outcomes of patients undergoing allogeneic stem cell transplantation following myeloablative conditioning. *Transplantation*. 2006 Sep27;82(6):835–9.
- [140] **Pidala J, Anasetti C**. Glucocorticoid-refractory acute graft-versus-host disease.*Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2010 Nov;16(11):1504–18.
- [141] **Martin PJ, Inamoto Y, Flowers MED, Carpenter PA**. Secondary treatment of acute graft-versus-host disease: a critical review. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2012 Jul;18(7):982–8.
- [142] **Garnett C, Apperley JF, Pavlů J**. Treatment and management of graft-versushost disease: improving response and survival. *Ther Adv Hematol*. 2013;4(6):366–78.

- [143] **Deeg HJ.** How I treat refractory acute GVHD. *Blood*. 2007 May 15;109(10):4119–26.
- [144] **Jagowski SM, Devine SM.** Graft-versus-host disease: why have we not made more progress. *Curr Opin Hematol*. 2014 Mar;21(2):141–7.
- [145] **Xhaard A, Rocha V, Bueno B, de Latour RP, Lenglet J, Petropoulou A, et al.** Steroid-refractory acute GVHD: lack of long-term improved survival using new generation anticytokine treatment. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2012 Mar;18(3):406–13.
- [146] **Martin PJ, Rizzo JD, Wingard JR, Ballen K, Curtin PT, Cutler C, et al.** First- and second-line systemic treatment of acute graft-versus-host disease: recommendations of the American Society of Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2012 Aug;18(8):1150–63.
- [147] **Alam N, Atenafu EG, Tse G, Viswabandya A, Gupta V, Kim D, et al.** Limited benefit of pentostatin salvage therapy for steroid-refractory grade III-IV acute graft-versus-host disease. *Clin Transplant*. 2013 Dec;27(6):930–7.
- [148] **Martin PJ, Carpenter PA, Sanders JE, Flowers ME.** Diagnosis and clinical management of chronic graft-versus-host disease. *Int.J.Hematol*. 79 (3):221-228, 2004.
- [149] **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 J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2005 Dec;11(12):945–56.
- [150] **Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL, McDonald GB, Striker GE, Sale GE, et al.** Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients. 1980;69(2):204-217.

- [151] **Magro L, Mohty M, Catteau B, Coiteux V, Chevallier P, Terriou L, et al.** Imatinib mesylate as salvage therapy for refractory sclerotic chronic graft-versus-host disease. *Blood*. 2009 16;114(3):719–22.
- [152] **Ribaud P.** Complications infectieuses des greffes de cellules souches hématopoïétiques allogéniques. *Le courrier de la transplantation*. 2002, vol 2, n°3.111-114.
- [153] **Aïssi-Rothéa L, Decot V, Wanga Y, Stoltza JF, Bensoussana D.** Apport des méthodes d'isolement immunomagnétique de lymphocytes T cytotoxiques dans la restauration rapide d'une immunité antivirale après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. *Revue francophone des laboratoires* 2012 ;(439) :55-60
- [154] **Sonis ST.** The pathobiology of mucositis. *Nature Rev Cancer* 2004;4:277–84.
- [155] **Roth Guepin G.** Impact de la composition du greffon sur la reconstitution hématopoïétiques et la survenue de complications en allogreffe de moelle osseuse [Thèse]. Médecine : Nancy ;2013
- [156] **Zaïen I.** Bronchiolite oblitérante et pneumopathies interstitielles après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités* : 2015 ; 7 :95-97
- [157] **De Berranger E, Jubert C, Michel G.** Séquelles post-allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. *Bull Cancer* .2015 ; 102 :648-655.
- [158] **Cornillon J, Decanter C, Couturier MA, Berrange E, François S, Hermet E, et al.** Suivi et prise en charge des troubles endocriniens en post-greffe de cellules souches hématopoïétiques : insuffisance gonadique et fertilité. *Pathologie Biologie* 2013 ; 61 :164–167
- [159] Agence de la biomédecine. Le rapport médical et scientifique du prélèvement et de la greffe en France [en ligne], 2011 [consulté le 28 Février 2016]. Disponible sur : <http://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2011/donnees/cellules/02registre/synthese.htm>

- [160] Agence de la biomédecine. Le rapport médical et scientifique du prélèvement et de la greffe en France [en ligne], 2011 [consulté le 28 Février 2016].
Disponible sur :
<http://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2012/donnees/cellules/03-registre/synthese.htm>
- [161] Agence de la biomédecine. Le rapport médical et scientifique du prélèvement et de la greffe en France [en ligne], 2011 [consulté le 28 Février 2016].
Disponible sur :
<http://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2013/donnees/cellules/03-registre/synthese.htm>
- [162] Agence de la biomédecine . Le rapport médical et scientifique du prélèvement et de la greffe en France [en ligne], 2011 [consulté le 28 Février 2016].
Disponible sur :
<http://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2014/donnees/cellules/03registre/synthese.htm>
- [163] **Deniaud Bouet E** .Le sang placentaire : Un Enjeu de Santé Publique en France. Mise en place du Don de Sang Placentaire dans Deux Maternités de l'Agglomération Nantaise. Thèse pour le diplôme d'état de doctorat : Pharmacie : Nantes : 2011
- [164] **Maxime H**. Niches et cellules souches [En ligne]. Institut de Génétique et Développement de Rennes (IGDR) et Université de Rennes 1 [cité le 18/02/2016].
Disponible à l'URL :
https://etudes.univrennes1.fr/masterbiogest/themes/Synthese_bibliographique/sujets_2011_a_2013/Cellules_souches_niches
- [165] **Kevin RP**. Rôle des facteurs de transcription HIF (Hypoxia Inducible Factor) dans le maintien à long terme des cellules souches hématopoïétiques humaines chez la souris immunodéficiente [Thèse]. Biologie cellulaire et Physiopathologie: Bordeaux; 2010.223

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- *D'honorer ceux qui m'ont instruite dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé publique, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*
- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisée de mes confrères si je manquais à mes engagements.*

قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوماً وفيها لتعاليمهم.
- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبداً في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبآداب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو احتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

والله على ما أقول شهيد

الزرم الخيفي للخلايا الجذعية الدموية

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :

من طرف

الآنسة: نادية برامو

المزودة في: 30 يونيو 1990 بكلميم

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: الخلايا الجذعية الدموية - النخاع العظمي - الدورة الدموية -
دم الحبل السري - زرع خيفي.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيسة

مشرفة

أعضاء

السيدة: سكيمة الحمزاوي
أستاذة في علم الأحياء الدقيقة
السيدة: منى نزيه
أستاذة في علم الدم البيولوجي
السيدة: سعيدة طلال
أستاذة في الكيمياء الإحيائية
السيد: عز العرب مسرار
أستاذ في علم الدم البيولوجي
السيدة: سعاد بنكيران
أستاذة في علم الدم البيولوجي