Photophérèse en milieu pédiatrique et AJA : intérêt d'une démarche de thérapie cellulaire pour optimiser le protocole de soins

Alexandre Araujo

▶ **To cite this version:**

Alexandre Araujo. Photophérèse en milieu pédiatrique et AJA : intérêt d'une démarche de thérapie cellulaire pour optimiser le protocole de soins. Médecine humaine et pathologie. 2013. dumas-00877383

HAL Id: dumas-00877383

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00877383

Submitted on 28 Oct 2013

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

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

Université Joseph Fourier GRENOBLE MEDECINE

SICD1 Bibliothèques de l'UJF et de Grenoble INP

AVERTISSEMENT

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

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

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

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

Contact au SICD1 de Grenoble : **thesebum@ujf-grenoble.fr**

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE

Année 2013 N°

PHOTOPHERESE EN MILIEU PEDIATRIQUE ET AJA: INTERET D'UNE DEMARCHE DE THERAPIE CELLULAIRE POUR OPTIMISER LE PROTOCOLE DE SOINS

THESE

PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

DIPLÔME D'ETAT

Alexandre ARAUJO

Né le 05 Août 1980 à MILLAU

THESE SOUTENUE PUBLIQUEMENT A LA FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE*

Le 23 OCTOBRE 2013

DEVANT LE JURY COMPOSE DE

Président du jury : M. le Professeur PLANTAZ

Membres :

Mme le Docteur PAGNIER, Directrice de Thèse

M. le Professeur GARBAN

Mme le Professeur PARK

M. le Docteur DRILLAT

**La Faculté de Médecine de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.*

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE

Année 2013 N°

PHOTOPHERESE EN MILIEU PEDIATRIQUE ET AJA: INTERET D'UNE DEMARCHE DE THERAPIE CELLULAIRE POUR OPTIMISER LE PROTOCOLE DE SOINS

THESE

PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

DIPLÔME D'ETAT

Alexandre ARAUJO

Né le 05 Août 1980 à MILLAU

THESE SOUTENUE PUBLIQUEMENT A LA FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE*

Le 23 OCTOBRE 2013

DEVANT LE JURY COMPOSE DE

Président du jury : M. le Professeur PLANTAZ

Membres :

Mme le Docteur PAGNIER, Directrice de Thèse

M. le Professeur GARBAN

Mme le Professeur PARK

M. le Docteur DRILLAT

**La Faculté de Médecine de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.*

REMERCIEMENTS

À Patricia, Antoine et Lucie, pour toutes ces belles choses qui ne regardent que nous.

À mes parents Jean et Isabelle, à ma sœur Aurélie, pour tout l'amour que vous m'avez donné et pour tout l'amour que vous donnez maintenant à mes enfants.

À toutes celles et ceux qui m'ont accompagné pendant mon internat, du 7ème C au A2, et en particulier :

À Olivier, ne me demande pas pourquoi, je ne sais pas non plus !

À Delphine, pour tous ces moments d'amitié que nous avons partagés.

À Camille, Hugo, Joffrey, Joan, Marcel, Fatima et bien d'autres, j'ai beaucoup ri avec vous, j'ai parfois pleuré pour vous, mais surtout j'ai grandi grâce à vous.

À toutes celles et ceux avec qui j'ai travaillé à l'HDJ – car, oui, quoique vous en pensiez, j'ai travaillé à l'HDJ !... entre deux tasses de café – pour ces deux semestres extraordinaires passés auprès de vous et en particulier **Corinne, Valérie, Ninie et Pat** (çà y est, enfin!).

À tous mes co-internes et à mes chefs pendant ces 8 semestres, pour tous ces chouettes moments que j'ai passé à râler auprès de vous. **À Ali**, le premier, le copain des 6 mois de galère.

À toutes celles et ceux qui m'ont aidé dans ce travail de thèse, au CHU, à l'EFS, à Saint-Ismier, **Mme Richard, Mme Ego.** Et merci surtout à **Laetitia Guiguet, Anne-Marie Cialdella et Catherine Massy,** pour votre aide, pour votre disponibilité et pour avoir toujours su me trouver un petit coin de bureau où travailler.

À M. le Professeur Plantaz,

Vous me faites l'honneur de présider mon jury, je vous en remercie.

Pendant toutes ces années, j'ai pu apprécier votre compétence professionnelle et surtout votre grand humanisme auprès des enfants et de leurs parents. J'essaierai de m'en inspirer tout au long de mes années à venir d'exercice de la pédiatrie.

À Mme le Docteur Pagnier,

Tu m'as fait l'honneur de me diriger dans ce travail, je t'en remercie.

Pendant toutes mes années d'internat et pendant ce travail de thèse, tu m'as guidé, tu t'es montrée disponible, compréhensive et tu as fait preuve à mon égard de beaucoup de patience et de considération dont j'espère être digne.

À M. le Professeur Garban,

Vous me faites l'honneur de juger mon travail, je vous en remercie.

Lors de notre rencontre à l'EFS, vous aviez témoigné de l'intérêt pour ce travail, j'espère que le résultat sera la hauteur de ce que vous pouviez en attendre.

À Mme le Professeur Park,

Vous me faites l'honneur de juger mon travail, je vous en remercie.

J'apprécie sincèrement la disponibilité dont vous faites preuve à l'égard d'un étudiant que vous n'aviez jamais encore rencontré, en participant à mon jury.

À M. le Docteur Drillat,

Vous m'avez fait l'honneur de me confier ce travail avec Anne, je vous en remercie.

A chacune de nos rencontres, lors de mes stages ou pendant ce travail de thèse, vous avez pris le temps de répondre aux questions que je vous posais. Aujourd'hui, j'espère pouvoir apporter des réponses pertinentes aux questions que vous m'avez posées.

SOMMAIRE

Remerciements 2

Liste des abréviations 5

Table des illustrations 7

- Figures 7
- Tableaux 7

Introduction 8

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques et la maladie du greffon contre l'hôte 9

La photochimiothérapie extracorporelle 15

Matériels et méthodes 23

Résultats 25

Discussion 37

Conclusion 42

Bibliographie 44

Annexes 49

- Annexe 1 : Classification de la GVH selon le NIH working group. 49
- Annexe 2 : Classification de Glucksberg. 49
- Annexe 3 : Classification de la GVH chronique selon le groupe de Seattle. 50
- Annexe 4 : Classification de la GVH chronique selon le NIH working group. 51
- Annexe 5 : Manifestations cliniques de la GVH chronique. 52
- Annexe 6 : Tableau comparatif des techniques de PCE. 54
- Annexe 7 : Procédure JACIE hématologie clinique et oncologie pédiatrique du CHU de Grenoble : la PCE dans le traitement de la GVH. 55

Serment d'Hippocrate 58

Liste des PU-PH et des MCU-PH 59

LISTE DES ABREVIATIONS

8-MOP : 8-methoxypsoralène.

AJA : Adolescents et Jeunes Adultes.

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité humain.

CMN : Cellules mononuclées.

CPA : Cellules présentatrices de l'antigène.

CSH : Cellules souches hématopoïétiques.

CSP : Cellules souches périphériques.

DLI : Réinjection de lymphocytes du donneur (*donor lymphocytes injection*).

EBV : Virus Epstein-Barr.

EFS : Etablissement Français du sang.

GVH : Maladie du greffon contre l'hôte (*graft versus host*).

GVHa : Maladie du greffon contre l'hôte aigüe.

GVHc : Maladie du greffon contre l'hôte chronique.

GVL : Effet greffon contre leucémie (*graft versus leukemia*).

GVT : Effet greffon contre tumeur (*graft versus tumor*).

HLA : *Human leucocyte antigene*.

HPN : Hémoglobinurie paroxystique nocturne.

ICT : Irradiation corporelle totale.

IL-1 : Interleukine 1.

IL-1Ra : Antagoniste au récepteur de l'interleukine 1.

IL-2 : Interleukine 2.

IL-6 : Interleukine 6.

IL-10 : Interleukine 10.

IL-R2 : Récepteur de l'interleukine 2.

IFN γ : Interferon gamma.

LAL : Leucémie aigüe lymphoblastique.

LAM : Leucémie aigüe myéloblastique.

LCT : Lymphome cutané T.

LT : Lymphocyte T.

LT reg : Lymphocyte T régulateur.

MMF : Mycophénolate mofétil.

MO : Moelle osseuse.

NO : Oxyde nitrique.

NK : Lymphocytes *Natural Killer*.

PCE : Photochimiothérapie extracorporelle.

SAL : Sérum anti-lymphocytaire.

TGF β1: *Transforming growth factor beta 1*.

TH1 : LT4 orienté vers une réponse cytotoxique (*lymphocyte T helper 1*).

TNF α : *Tumor necrosis factor alpha*.

USP : Unité de sang placentaire (ou sang de cordon).

UVA : Ultraviolet A.

TABLE DES ILLUSTRATIONS

FIGURES

Figure 1 : Mécanismes hypothétiques d'action de la PCE. **19**
Figure 2 : Courbe de survie globale. **33**
Figure 3 : Courbe de survie selon la réponse à la PCE. **34**
Figure 4 : Courbe de survie selon le type de GVH. **34**

TABLEAUX

Tableau I : La photochimiothérapie dans le traitement de la GVH de l'enfant. Données des principales cohortes publiées. **20**

Tableau II : Tableau des caractéristiques générales des patients. **26**

Tableau III : Evaluation des atteintes organiques de la GVH avant et après la PCE. **27**

Tableau IV : Caractéristiques des procédures de PCE pour les patients présentant une GVH aigüe. **29**

Tableau V : Caractéristiques des procédures de PCE pour les patients présentant une GVH chronique. **29**

Tableau VI : Réponse à la PCE selon le type de GVH. **31**

Tableau VII : Réponse à la PCE selon la gravité de la GVH. **31**

Tableau VIII : Comparaison des moyennes de cellules traitées/poids du patient en fonction de la réponse à la PCE. **32**

Tableau IX : Tableau des décès des patients. **33**

INTRODUCTION

La Photochimiothérapie Extracorporelle (*PCE*) ou photophérèse est une technique d'immunothérapie, utilisée notamment depuis une vingtaine d'années dans le traitement de la maladie du greffon contre l'hôte (*graft versus host = GVH*). Dans cette indication, la PCE est un traitement de deuxième ligne des GVH corticorésistantes et son utilisation relève du domaine des habitudes des centres de greffe. Elle a aussi la particularité d'être utilisée dans le monde selon 2 techniques différentes dont le déploiement tient de l'historique de son développement et des habitudes des services prescripteurs. A côté de la technique historique, nord américaine, est apparue une deuxième technique, française, qui a permis l'utilisation de la PCE dans le milieu pédiatrique et qui se caractérise aussi par son inscription dans le cadre réglementé de la Thérapie Cellulaire. Les deux méthodes sont considérées comme efficaces bien qu'elles n'aient jamais été comparées dans des études contrôlées, pourtant elles opposent des caractéristiques techniques très différentes, peu considérées dans les études cliniques. Nous avons réalisé une étude rétrospective monocentrique qui se propose dans un premier temps de s'intéresser à l'un de ces paramètres en analysant l'influence du nombre de cellules traitées sur l'efficacité thérapeutique de la PCE dans le traitement de la GVH des enfants, adolescents et jeunes adultes. Dans un deuxième temps, nous nous proposons d'étudier la question de la faisabilité de la PCE chez les patients et des circuits patients face aux contraintes cliniques et techniques, dans le cadre d'une démarche qualité.

L'ALLOGREFFE DE CELLULES SOUCHES HEMATOPOÏETIQUES ET LA MALADIE DU GREFFON CONTRE L'HÔTE

On estime à plus de 25000 le nombre d'allogreffes de cellules souches hématopoïétiques (*CSH*) réalisées dans le monde tous les ans. Elle constitue le traitement curatif de référence de nombreuses hémopathies malignes, maladies de la moelle osseuse (aplasie médullaire idiopathique), hémoglobinopathies (thalassémie, drépanocytose), déficits immunitaires ou de maladies métaboliques. Trois types de greffons peuvent être utilisés : la moelle osseuse (*MO*), les cellules souches périphériques (*CSP*) et le sang de cordon ou unité sanguine placentaire (*USP*). Le donneur peut être un frère ou une sœur, HLA compatible, du receveur (*greffe génoidentique*) ou il peut être choisi dans un fichier de volontaires sains, dans ce cas là le donneur, non apparenté, est sélectionné en fonction de son histocompatibilité avec le receveur (*greffe phénoidentique*). Le degré de compatibilité est mesuré sur les antigènes HLA de classe I A, B et C et de classe II DR et DQ. Grâce à l'amélioration des techniques et des procédures liées à la greffe (conditionnement non myéloablatif, réinfusion des lymphocytes du donneur, greffe de sang de cordon), les indications et le nombre de patients susceptibles de bénéficier d'une greffe de CSH continue d'augmenter, parallèlement à l'augmentation du nombre de greffes avec des donneurs non apparentés [Ferrara *et al*. 2009]

La greffe de cellules souches consiste à remplacer le système hématopoïétique du receveur par celui du donneur. En cas d'hémopathie non maligne ou de déficit immunitaire, la nouvelle hématopoïèse ainsi obtenue sera indemne de la maladie initiale et donc fonctionnelle. Dans le cadre des hémopathies malignes, la greffe vise aussi à la destruction du clone cellulaire malin.

Le premier temps du traitement est constitué par le conditionnement myéloablatif, cytotoxique, administré au receveur mais le greffon, constitué de cellules souches et aussi de cellules immunitaires compétentes, joue lui-même le rôle d'une immunothérapie antitumorale par la réaction allogénique des cellules T du greffon contre les cellules tumorales – l'effet greffe contre leucémie ou tumeur (*graft versus leukemia* ou *tumor* = *GVL* ou *GVT*). Toutefois, le corollaire de cette réaction allogénique bénéfique est un effet délétère de destruction des tissus du receveur par ces mêmes cellules compétentes: la réaction du greffon contre l'hôte ou GVH.

La GVH est la complication majeure et la principale cause de mortalité dans les suites d'une allogreffe de CSH, même si elle est associée dans le cas des hémopathies malignes à une diminution du risque de rechute post-greffe.

Historiquement, la GVH était classée en deux catégories : la GVH aigüe qui survenait dans les 100 premiers jours suivant la greffe et la GVH chronique qui survenait au-delà de J100 et que l'on pouvait distinguer, selon l'existence au préalable d'une GVH aigüe, en GVH chronique *de novo* (absence de GVH aigüe), *progressive* (continuité entre la GVH aigüe et la GVH chronique) et *quiescente* (intervalle de temps libre de toute manifestation de GVH entre la GVH aigüe et la GVH chronique). Mais cette définition présentait des limites évidentes notamment liées aux différences de la physiopathologie et des manifestations cliniques des deux formes de GVH. Il était aussi décrit, chez certains patients, l'existence simultanée de manifestations cliniques aigües et chroniques de GVH, et la réinfusion de lymphocytes du donneur a été à l'origine de l'apparition de manifestations cliniques de GVH aigüe quelque soit le terme de son utilisation. Le choix arbitraire de J100 comme limite paraissait finalement inadapté et en 2005, le National Institutes of Health Working Group a présenté une nouvelle classification de la GVH (Annexe 1). Elle distingue les GVH aigües classiques apparaissant avant J100, des formes persistantes ou tardives existant après J100, les GVH chroniques définies par leurs manifestations cliniques et histologiques et les syndromes de chevauchement (ou *overlap syndrome*) associant des signes de GVH aigües et chroniques [Filipovich *et al*. 2005].

Dès 1966, 3 conditions nécessaires au développement de la GVH étaient identifiées [Billingham 1966] :

- présence de cellules immunocompétentes dans le greffon ;
- différence receveur-donneur au niveau des antigènes majeurs ou mineurs d'histocompatibilité capables d'êtres reconnus comme étrangers par le système immunitaires du donneur ;
- receveur immunodéprimé incapable de rejeter les cellules du donneur.

La GVH aigüe est principalement liée à la reconnaissance par les cellules compétentes du donneur d'antigènes majeurs mais surtout mineurs du receveur. L'enchainement des évènements qui vont entrainer cette GVH aigüe alors est décrit en 3 étapes [Ferrara *et al*. 2006; Sun *et al*. 2007] :

- Phase d'activation des cellules présentatrices de l'antigène (*CPA*) du receveur. Les lésions tissulaires liées au conditionnement entrainent une tempête cytokinique avec sécrétion de cytokines proinflammatoires (TNFα, IL-1, IL-6…) et l'augmentation de l'expression à la surface des cellules des molécules d'adhésion et du CMH. Ces événements conduisent à l'activation des cellules présentant l'antigène (*CPA*) et à la

reconnaissance des antigènes majeurs et mineurs du receveur par les cellules immunitaires compétentes du donneur.

- Phase d'activation, prolifération et différentiation des lymphocytes T (*LT*) du donneur. La reconnaissance des allo-antigènes sur les cellules présentatrices par les lymphocytes T du donneur induit leur activation, leur expansion et leur différenciation en cellules effectrices, cytotoxiques et auxiliaires. Le profil des cytokines secrétées (IL-2, IFN γ, TNF α…) est principalement du type TH1, avec l'orientation cytotoxique de la différenciation des LT et l'activation des cellules phagocytaires et des cellules NK.
- Phase de destruction tissulaire. Les lésions tissulaires sont secondaires à l'action des cellules effectrices, lymphocytes cytotoxiques T8 et cellules NK, et de cytokines (IL-1, IFN γ, TNF α, oxyde nitrique NO…) par le biais de l'apoptose des cellules cibles ou leur destruction directe.

La peau, le tube digestif et le foie sont les organes cibles de la GVH aigüe. La peau est l'organe le plus souvent inaugural et le plus fréquemment atteint. Les lésions sont constituées d'un érythème morbiliforme, souvent prurigineux, atteignant classiquement la face, les paumes et les plantes, les faces d'extension des membres et à un degré moindre le tronc. L'évolution se fait vers la diffusion des lésions qui deviennent confluentes et pourpres. A un stade avancé, des lésions de décollement apparaissent, d'abord localisées et provoquées (signe de Nikolsky) et pouvant s'étendre jusqu'à atteindre une épidermolyse. L'atteinte digestive est polymorphe, avec des nausées ou des vomissements, des douleurs abdominales et surtout une diarrhée aqueuse ou hémorragique pouvant mettre en jeu le pronostic vital du patient [Nevo *et al*. 1999]. L'atteinte hépatique est principalement biologique (cytolyse et cholestase), plus tardive et peut être difficile à distinguer des autres causes d'atteintes hépatiques liées à la greffe (maladie veino-occlusive, toxicité médicamenteuse, infections…) [Ferrara *et al*. 2009]. En fonction du nombre et de la sévérité des atteintes d'organes (classée en 4 stades de 1 à 4), on classe la GVH aigüe en 4 grades de I à IV, selon la classification, décrite par Glucskberg [Glucksberg *et al*. 1974]. (Annexe 2).

La physiopathologie de la GVH chronique reste moins bien connue. Contrairement à la GVH aigüe, le profil immunitaire de la GVH chronique associe à la fois une composante cellulaire et humorale. Les lymphocytes T du donneur sont aussi des cellules effectrices majeures de la GVH chronique mais à cette allo-immunité s'associe aussi une composante auto-immune

caractérisée par l'existence d'auto-anticorps dirigés contre des antigènes des cellules du receveur [Chen *et al*. 2007]. Par ailleurs, l'étude de modèles animaux a permis de mettre en évidence l'existence d'un dysfonctionnement thymique qui se manifeste par une dysrégulation des mécanismes de la T régulation [Zhang *et al*. 2006 ; Daikeler *et al*. 2007]. La GVH chronique concerne un nombre d'organes plus important et revêt un grand polymorphisme dans sa présentation. Les symptômes peuvent mimer des maladies auto-immunes (sclérodermie, syndrome de Gougerot-Sjogren, connectivites…). Les organes les plus fréquemment atteints sont la peau (atteinte quasi constante) et les muqueuses, le foie et les yeux. Les atteintes des autres organes (poumons, tube digestif, muscles…) sont moins fréquemment retrouvées.

La classification selon le groupe de Seattle a longtemps été la référence [Shulman *et al*. 1980], la GVH chronique était classée en fonction de sa présentation en forme limitée et extensive. (Annexe 3). Depuis 2005 et la nouvelle classification proposée par le NIH [Filipovich *et al*. 2005], les atteintes d'organes permettent d'établir un score clinique selon leur sévérité (score de 0 à 3) et la GVH chronique est classée en fonction du nombre et de la sévérité des scores d'atteinte clinique en forme légère, modérée ou sévère. (Annexe 4, Annexe 5)

L'incidence et la gravité des GVH varient en fonction de plusieurs facteurs liés au greffon, au donneur et au receveur [Ferrara *et al*. 2005; Shlomchik 2007]. Selon les séries, la GVH aigüe concerne 10 à 60% des patients adultes allogreffés à partir d'un donneur HLA identique apparenté (greffe génoidentique) et 45 à 80% des allogreffes à partir d'un donneur HLA identique non apparenté (greffe phénoidentique). En cas de mismatch d'un antigène, l'incidence des GVH aigüe de grade II à IV dans les greffes de donneur apparenté atteint 70-75% et jusqu'à 90% en cas de mismatch de 2 allèles. L'incidence de la GVH augmente aussi avec l'âge du receveur. Chez les patients pédiatriques, l'incidence globale serait de 20 à 30% environ [Bunin *et al*. 2002]. Elle est moins fréquente que chez l'adulte mais son incidence augmente depuis plusieurs années, avec l'augmentation du nombre de greffes de cellules souches périphériques et de donneurs non apparentés [Zecca *et al*. 2002 ; Ferry *et al*. 2007 ; Merlin *et al*. 2010]. Chez les adultes de moins de 50 ans, elle concerne 30% des patients et près de 70% chez les plus de 50 ans [Ferrara *et al*. 2005]. Le sexe féminin du donneur et masculin du receveur, la non déplétion en cellules T du greffon et le type de greffon (avec un risque de GVH plus important en cas de greffe de cellules souches périphériques par rapport à la greffe de moelle osseuse et un risque moindre en cas de greffe de sang de cordon) sont

aussi des facteurs de risque de GVH [Cutler *et al*. 2001 ; Laughlin *et al*. 2004]. La GVH chronique atteindrait 25% à 60% des patients adultes dans le cadre des greffes génoidentiques et 50% à 70% des greffes phénoidentiques. L'âge élevé du receveur, l'indication de greffe pour une aplasie médullaire ou une leucémie myéloïde chronique, la différence de sexe donneur-receveur, la non déplétion T du greffon, l'utilisation de cellules souches périphériques et l'existence préalable d'une GVH aigüe sont les principaux facteurs de risque de survenue d'une GVH chronique [Lee *et al*. 2003].

Le pronostic global est mauvais avec 20 à 30% de décès des patients atteints à la suite des conséquences directes et des conséquences indirectes (effets secondaires des traitements et infections notamment) de la GVH. En cas de forme sévère, la mortalité peut atteindre jusqu'à 90%. A long terme, le pronostic de la GVH aigüe reste sévère avec une survie à 5 ans de 25% pour les grades III et 5% pour le grade IV [Cahn *et al*. 2005].

La GVH chronique reste la principale cause de décès non liée à une rechute au-delà des 2 ans post greffe. Même si la GVH est associée à une diminution du risque de rechute, les infections et les défaillances d'organes secondaires sont responsables d'un grand nombre de décès, et la survie globale diminue avec la sévérité de la GVH chronique [Lee *et al*. 2002].

La stratégie de prévention de la GVH lors d'une greffe peut passer par 2 procédés principaux :

- une déplétion en lymphocytes T, dans un premier temps pré greffe : soit en réalisant une sélection positive ex vivo des cellules CD34 (par technique d'immuno-absorption sur colonnes d'avidine ou par technique immunomagnétique), soit par l'administration de Sérum Anti-lymphocytaire (*SAL*).
- l'immunosuppression post greffe associant le plus souvent la ciclosporine A au méthotrexate ou au mycophénolate mofétil, les protocoles pouvant varier en fonction de l'indication.

La corticothérapie par administration de méthylprednisolone associée à l'optimisation de l'immunosuppression reste le traitement curatif référent de la GVH aigüe. L'indication est posée pout toutes les GVH à partir du grade II. Il est efficace dans environ 50% des cas [Carpenter *et al*. 2003]. En cas d'échec, plusieurs stratégies ont été développées : associations d'autres immunosuppresseurs (antimétabolites : méhotrexate, mycophénolate -mofétil, rapamycine…), administration d'anticorps monoclonaux (anticorps antiCD25, anticorps anti TNF α), photochimiothérapie extracorporelle. De nouvelles stratégies sont en cours d'études comme l'injection de cellules souches mésenchymateuses issues du donneur [Blanc *et al*. 2008].

Pour la GVH chronique, dont la physiopathologie reste moins bien connue, divers immunosuppresseurs sont utilisés, avec des réponses variables selon les organes. L'association méthylprednisolone et ciclosporine reste toutefois le traitement de référence. De multiples traitements de deuxième ligne peuvent être proposés (mycophénolate mofétil, thalidomide, photochimiothérapie extracorporelle) [Dignan *et al*. 2012].

Malgré la disponibilité de multiples options thérapeutiques, l'efficacité des traitements proposés et leur toxicité restent un problème dans la prise en charge de la GVH. La maladie resterait incontrôlée jusqu'à 50% des cas [Peters *et al*. 2000]. Les associations de corticostéroïdes et de ciclosporine ou de thérapeutiques de deuxième lignes (azathioprine, thalidomide, mycophénolate mofétil, tacrolimus, sérum anti-lymphocytaire, anticorps antimonoclonaux anti IL-R2 ou anti TNF α) favorisent, de plus, dans ce contexte d'immunosuppression post greffe et thérapeutique, les infections et le risque de développement d'une pathologie tumorale maligne.

LA PHOTOCHIMIOTHERAPIE EXTRACORPORELLE

La Photochimiothérapie Extracorporelle (*PCE*) est utilisée depuis les années 1980. Son indication historique est le lymphome T cutané (*LCT*) érythrodermique à un stade avancé avec des cellules malignes circulantes. Les premières données cliniques sur la faisabilité et l'efficacité thérapeutique ont été publiées en 1987 [Edelson *et al*. 1987], puis de nombreuses publications ont fait suite, rapportant les premiers résultats dans de nombreuses pathologies allo ou autoréactives, en particulier le rejet aigüe de greffe cardiaque [Costanzo-Nordin *et al*. 1992], les rejets de greffe pulmonaire et rénale [Andreu *et al*. 1995 ; Horina *et al*. 1995 ; Heshmati *et al*. 1997 ; Heshmati *et al*. 1997] et la maladie du greffon contre l'hôte [Rossetti *et al*. 1996]. De nombreuses publications de cas isolés ou de petites séries ont relaté une efficacité variable dans de nombreuses pathologies : efficacité dans la prévention du rejet de greffe cardiaque, inefficacité dans la prévention des poussées de sclérose en plaques, effet insuffisant dans la sclérodermie ou le diabète de type I [Barr *et al*. 1998 ; Rostami *et al*. 1999 ; Knobler *et al*. 2006 ; Ludvigsson *et al*. 2001]. Actuellement, la GVH principalement, le LCT et à un niveau moindre le rejet de greffe d'organe restent ses 3 principales indications.

La PCE est une technique d'immunothérapie dont l'activité est liée à une immunomodulation générée par une modification ex vivo des cellules lymphocytaires T pathogènes du patient, se déroulant en 3 temps et permettant d'obtenir ces cellules modifiées qui sont l'agent thérapeutique :

1. prélèvement par cytaphérèse de cellules mononuclées autologues avec séparation cellulaire par centrifugation au cours d'une circulation extracorporelle et obtention d'une suspension cellulaire enrichie ou buffy-coat.
2. ajout d'un produit photosensibilisant (8-methoxypsoralène) dans la poche et photo-irradiation par rayonnement ultraviolet A (UVA, 365 nm).
3. réinfusion du produit cellulaire traité par voie veineuse périphérique.

Les séances de PCE durent entre 2 et 3 heures. Il n'existe pas de consensus établi sur la réalisation pratique du schéma thérapeutique de la PCE. Le rythme et le nombre de séances varient de 2 à 3 séances par semaines à 1 séance mensuelle, en fonction des indications, des patients (tolérance, accessibilité veineuse) et des disponibilités techniques et organisationnelles. De façon pratique, il se dégage régulièrement dans les schémas employés, une première phase que l'on pourrait comparer à un traitement « d'attaque » avec des séances

rapprochées, au terme duquel, en fonction de la réponse à ces premières séances, il peut être proposé de poursuivre un schéma de séances moins fréquentes et qui s'espacent dans le temps, comparable à un traitement « d'entretien ». Et il existe actuellement deux types de procédures permettant la réalisation de la PCE [Schooneman *et al*. 2003] : le système dit « fermé» et le système dit «ouvert ».

La première technique, historique, dite « fermée » ou « en ligne » a été développée par la société Therakos (Johnson and Johnson, USA) et permet de réaliser avec un seul appareillage l'ensemble des étapes de la procédure [Parrish *et al*. 1974]. Le même dispositif (UVAR™ XTS™) permet de réaliser la séparation des cellules (séparateur à flux discontinu) et l'irradiation UVA. Le patient reste connecté à l'appareil durant toute la procédure. La suspension enrichie en cellules mononuclées est collectée dans la chambre de photoactivation tandis que les globules rouges et le plasma sont réinjectées aux patients. Les cycles de prélèvement se répètent entre 3 et 6 fois. La solution de 8-MOP (UVADEX®) est injectée dans la poche de collecte, pour une concentration de 50ng/ml. Les cellules sont irradiées par UVA à forte intensité (1 à 2 J/cm²) en passant dans des circuits tubulaires exposés à des lampes puis elles sont réinjectées au patient. L'importance du volume sanguin extracorporel limite l'utilisation de cette méthode chez les enfants [Goussetis *et al*. 2012] mais la mise au point d'un appareil de 3ème génération usant d'un séparateur à flux continu (Therakos CFS™) permettrait de limiter le volume circulant extracorporel et pourrait faciliter l'utilisation pédiatrique de cette technique [HAS 2010].

La seconde technique dite « ouverte » ou « dissociée », développée en France et se réalise en plusieurs temps avec deux appareils [Andreu *et al*. 1994]. Le premier temps, le recueil des cellules mononuclées, se fait avec un séparateur à flux continu (Spectra™ (Cobe) ou ComTec™ (Fresinius-Kabi)). Puis la suspension cellulaire est transportée dans une poche adaptée à l'irradiation UVA dans laquelle est injectée le 8-MOP, à une concentration de 200ng/ml. La poche est placée sur un agitateur en verre et est exposée à l'irradiation UVA (Theraflex ECP™ (MacoPharma) ou UVA Biogenics™ (Vilber-Lourmat) selon une dose et une durée calculée en fonction de l'hématocrite, l'hémoglobine absorbant une partie des UVA, la dose sera de 2 ou 2,5 J/cm², en fonction d'une hématocrite inférieure ou supérieure à 2%. Puis la suspension est réinjectée au patient par voie veineuse périphérique. Il s'agit donc d'une technique de thérapie cellulaire au sens de l'article L1241-1 du Code de santé publique.

Les deux techniques sont réputées pour être efficaces, mais elles n'ont jamais été comparées par une étude prospective. Chacune d'elle présente des avantages et des inconvénients en terme de mise en œuvre et d'organisation de service, de réalisation, de volume sanguin

extracorporel et de tolérance secondaire, de la qualité et la quantité de la suspension prélevée, de la sécurité et du coût. (Annexe 6). En pédiatrie, en particulier chez les enfants de moins de 40 kilogrammes, la technique « dissociée » est privilégiée, elle apparaît comme la seule utilisable chez les moins de 20 kilogrammes et permet les prélèvements chez les enfants de petit poids (à partir de 10 kilogrammes). Le volume extracorporel nécessaire est moindre (inférieur à 300 ml contre un volume de 300 à 600ml pour la méthode « fermée »), le volume sanguin traité est plus important (7000 à 10000ml contre 1500 à 4500ml pour le système « fermé »). Les prélèvements de cellules mononuclées sont plus riches que dans la méthode « fermée » (estimation jusqu'à 3 fois environ) et de meilleure qualité (cellules mononuclées supérieures à 90%), l'hématocrite est moindre (jusque sous 2% contre plus de 4%) [HAS 2010]. Les prélèvements en méthode « dissociée » permettent en outre la réalisation de tests de contrôle qualité (numération et formule cellulaire, tests de transformation lymphoblastique). Toutefois, la manipulation des poches en système « ouvert » expose à un risque infectieux et impose des contrôles bactériologiques systématiques. Les prélèvements et la manipulation de cellules autologues imposent, en outre, l'intervention d'un laboratoire de thérapie cellulaire ainsi que l'obtention d'une autorisation de préparation de thérapie cellulaire, telles que prévues aux articles L1243-2 et L1243-5 du Code de santé publique.

En pratique, le choix de l'une ou l'autre des techniques reste une décision locale faite en fonction des critères organisationnels des centres. Selon les données publiées par la Société Française de Photochimiothérapie Extracorporelle (ou *SFPE*) en 2012, la PCE était réalisée dans 24 centres, 9 EFS (dont Grenoble) et 15 centres de soins, avec une expérience pédiatrique dans les centres de Besançon, Clermont-Ferrand, Grenoble, Marseille, Nancy, Nantes, Nice, Paris (Robert-Debré et Saint-Louis) et Rouen. Le nombre de séances réalisées chaque année est en augmentation régulière, avec une progression de plus de 200% entre 2004 et 2011, concernant un nombre de patients qui augmente dans les mêmes proportions. En 2011, 350 patients ont bénéficié de 6347 séances de PCE. Les deux méthodes sont utilisées dans des proportions différentes selon les centres mais au niveau national, la méthode « ouverte » reste légèrement plus utilisée.

Toutefois, l'absence d'une compréhension complète des mécanismes de l'efficacité clinique de la PCE est un des facteurs limitant son développement [Plumas *et al*. 2003, Hannani *et al*. 2010]. L'élément commun des pathologies traitées par PCE est la présence d'un clone lymphocytaire pathogène (tumoral dans le LCT, alloréactif dans la GVH et le rejet de greffe) contre lequel se constitue une réaction immunitaire spécifique (immunité anticlonotypique) les neutralisant [Plumas *et al*. 2003, Heshmati 2003]. Mais l'action de la PCE n'est pas liée à

l'effet déplétif par la mise en apoptose ou la destruction des cellules pathogènes, le contingent circulant de celle-ci ne représentant que 10% environ de leur contingent total essentiellement tissulaire. Les hypothèses les plus récentes attribuent aux cellules dendritiques un rôle central dans le mécanisme d'action de la PCE :

- le premier temps serait l'induction d'une apoptose et d'une cytotoxicité antimitotique, suite à la formation de liaisons covalentes entre le 8-MOP photoactivé et les acides nucléiques cellulaires des cellules de la suspension traitées, selon des cinétiques variables et à l'exception des monocytes.
- le deuxième temps serait la différenciation monocytaire en cellules dendritiques immatures. La phagocytose des corps apoptotiques, qui se ferait dans la poche par les CPA traitées puis qui se poursuivrait in vivo après la réinjection, par les CPA non traitées, induirait une modification de l'environnement cellulaire et la sécrétion d'IL-10, d'IL-1Ra et de TGF β1 et l'inhibition du TNF α entraînant la maturation des cellules dendritiques immatures en cellules dendritiques matures.
- Ces cellules au profil « tolérogène », migrant vers les organes lymphoïdes secondaires, entreraient en contact avec des lymphocytes T naïfs et entraîneraient la production de lymphocytes T CD 4 régulateurs inactivant les cellules T clonales pathogènes, ce qui provoquerait la régression des manifestations cliniques [Heshmati *et al*. 2003 ; HAS 2010 ; Goussetis *et al*. 2012 ; Hart *et al*. 2013] (Figure 1).

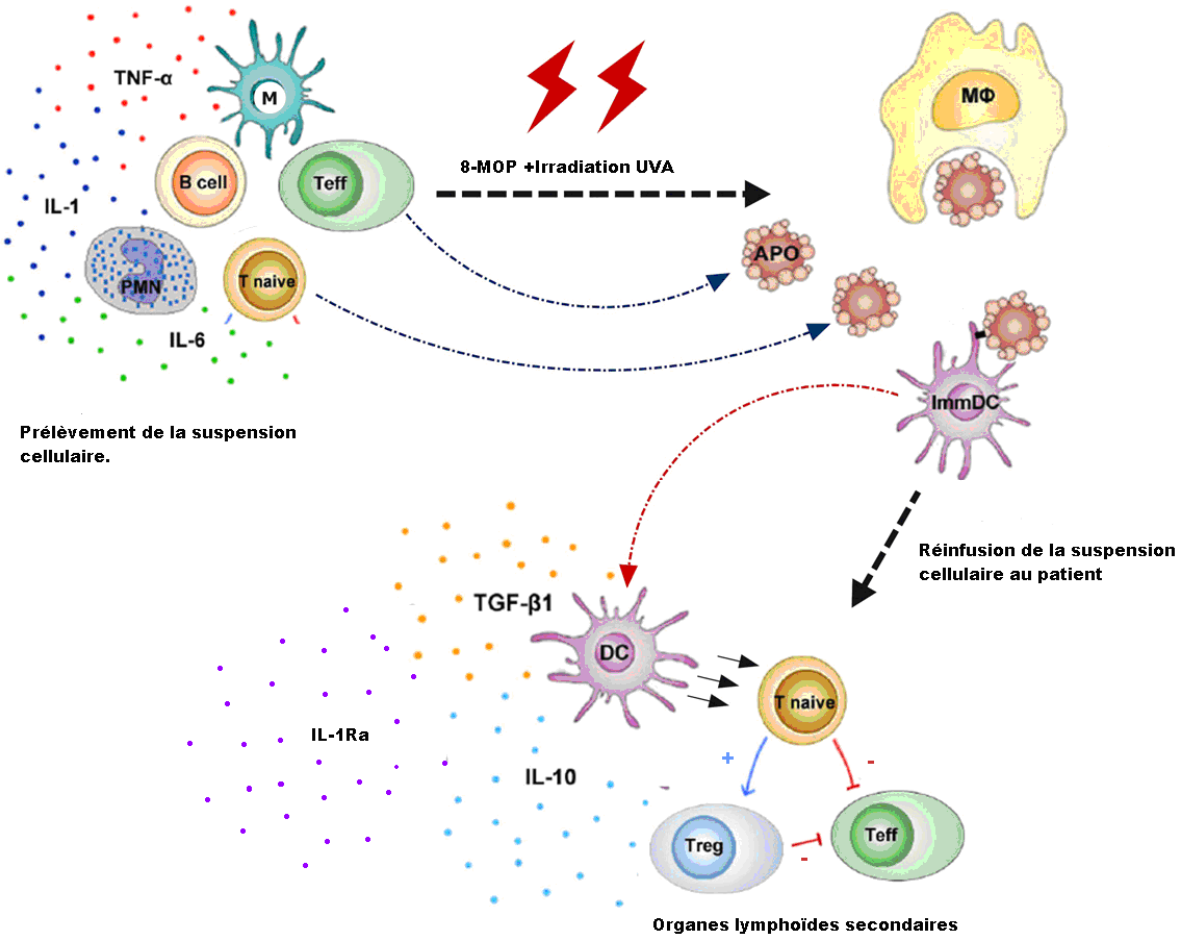
Les pistes de recherche restent malgré tout nombreuses et l'implication de nombreuses cellules ou cytokines étudiée dans le modèle animal n'a jamais pu être rapprochée du modèle humain.

L'absence d'effets secondaires comparables à ceux des immunosuppresseurs, l'absence d'infections opportunistes imputables à la seule PCE, ainsi que l'absence de survenue de néoplasies secondaires et en particulier de syndromes lymphoprolifératifs liés à l'EBV [Suchin *et al*. 1999; Marshall *et al*. 2006] expriment le bénéfice potentiel que l'on peut obtenir chez les patients traités. Pourtant, les publications décrivant l'efficacité clinique de la photochimiothérapie et en particulier en pédiatrie restent peu nombreuses. Les données viennent essentiellement de France et d'Italie. [Merlin *et al*. 2010]. Les revues de la littérature permettent de conclure qu'une utilisation précoce de la PCE après le début des manifestations des signes cliniques est liée à une plus grande efficacité thérapeutique, que son efficacité est d'autant plus grande que la sévérité de la GVH est plus faible. Par ailleurs, l'utilisation de la PCE permet aussi de diminuer les doses voire d'arrêter les immunosuppresseurs, en

particulier les corticoïdes, associés dans la cadre du traitement de la GVH [Dall'Amico *et al*. 2002; Couriel *et al*. 2006; Flowers *et al*. 2008].

Figure 1:

Mécanismes hypothétiques d'action de la PCE.



Mécanisme d'action de la PCE : (1) Prélèvement de la suspension cellulaire chez le patient. (2) Photosensibilisation (8-MOP) et irradiation UVA. Apoptose des lymphocytes T photoirradiés et maturation des monocytes en cellules dendritiques immatures et phagocytose des corps apoptotiques. (3) réinfusion de la suspension. Sécrétion de cytokines anti-inflamamtoires par les cellules denritiques, activation de LT reg et inhibition des LT cytotoxiques.

M=monocytes, MΦ=macrophage. APO=corps apoptotiques. DC= cellules dendritiques. ImmDC= cellules dendritiques immatures.

Source : Goussetis E *et al*. *Update on the mechanism of action and on clinical efficacy of extracorporeal photopheresis in the treatment of acute and chronic graft versus host disease in children.* Transfus Apher Sci 2012; 46: 203–9.

Les revues de la littérature analysent essentiellement des études rétrospectives ou de rares études prospectives non contrôlées. Une étude rétrospective de 2008 [Perfetti *et al*. 2008] rapporte pour la GVHa un taux global de réponse de 52%, avec des réponses variables selon le grade de la GVH (72% pour le grade II, 42% pour le grade III et 0% pour le grade IV). Une revue de la littérature de 2006 [Marshal *et al*. 2006] rapporte pour la GVH aigüe (6 études, 128 patients) un taux moyen de réponse globale de 83% pour l'atteinte cutanée (50-100%), de 35% (0-65%) pour l'atteinte hépatique et de 75% (60-100%) pour l'atteinte digestive, et pour la GVH chronique (16 études, 335 patients) un taux moyen de réponse globale de 72% (40-100%) pour l'atteinte cutanée, de 63% (0-100%) pour l'atteinte hépatique et de 74% (0-95%) pour l'atteinte digestive. Deux revues publiées par des équipes pédiatriques [Merlin *et al*. 2010; Goussetis *et al*. 2012] reprennent quelques unes des principales cohortes de patients publiées depuis le début des années 2000. 167 cas de GVHA sont recensés, avec 73% (53-91%) de réponses globales, dont 46% (32-60%) de réponses complètes et 28% (6-50%) de réponses partielles, la survie globale est de 59% (44-87%).119 cas de GVHC sont recensés avec 62% (43-83%) de réponses globales dont 30% (14-50%) de réponses complètes et 32% (10-47%) de réponses partielles, la survie globale est de 75% (53-82%) (Tableau I).

Tableau I :

La photochimiothérapie dans le traitement de la GVH de l'enfant. Données des principales cohortes publiées.

Publications : auteur, année	**Patients GVHA/GVHC**	**Réponse GVHa (RC/RP/PR)**	**Survie GVHa**	**Réponse GVHc (RC/RP/PR)**	**Survie GVHc**
Salvaneschi *et al*. 2001	9 – 14	3/4/2	7/9	4/5/5	11/14
Messina *et al*. 2003	33 – 44	18/7/8	19/33	15/10/19	36/44
Kanold *et al*. 2007	12 – 15	7/3/2	8/12	4/7/4	8/15
Berger *et al*.2007	15 – 10	9/1/5	9/15	4/1/5	5/7
Duzovali *et al*. 2007	0 – 7			1/2/4	4/7
Calore *et al*. 2008	15 – 0	7/1/7	13/15		
Gonzales *et al*. 2010	21 – 6	11/8/2	ND	3/2/1	ND
Perotti *et al*. 2010	50 – 23	16/18/16	22/50	5/11/7	18/23
Merlin *et al*. 2010	12 – 0	6/4/2	8/12		
Total	167– 119	77/46/44 (46/27/26%)	86/146 (59%)	36/38/45 (30/32/38%)	82/110 (75%)

RC= Réponse complète, RP= réponse partielle, PR= Pas de réponse, ND= non détaillé.

Il ne s'agit pas d'études contrôlées et elles ne présentent pas de critères consensuels de définition de la réponse clinique (en particulier des réponses complètes et partielles), toutefois elles confirment les bons résultats de la PCE et permettent de conforter son intérêt dans l'arsenal thérapeutique. Il n'y a pas encore de consensus national ou international, les

habitudes restent liées à chaque centre mais la PCE se positionne comme une indication de choix dans le traitement de 2ème ligne des GVH corticorésistantes, ou en cas de recherche d'alternative thérapeutique dans les situations de toxicité des immunosuppresseurs, ou en cas de recherche d'une diminution rapide des immunosuppresseurs, en particulier la recherche d'une épargne cortisonée surtout chez l'enfant.

Le retour des expériences cliniques des divers centres qui utilisent la PCE n'a jamais mis en évidence de complication majeure à long terme imputable à la PCE. La première complication contextuelle pourrait venir du risque infectieux chez ces patients immunodéprimés, par la répétition des abords veineux nécessaires à la réalisation des séances et les manipulations des prélèvements cellulaires dans le cadre de la technique « ouverte ». Les études des contrôles bactériologiques ne révèlent pas d'augmentation des bactériémies chez les patients traités [Merlin *et al*. 2010]. Le principal effet indésirable reste la baisse de l'hémoglobinémie et de la numération plaquettaire, par hémodilution et hémolyse mécanique (jusqu'à 1g/dl de baisse de l'hémoglobine et près entre 15% et 20% du nombre de plaquettes) pouvant conduire à la réalisation de transfusion de concentres globulaires sanguins ou de plaquettes [Kanold *et al*. 2007]. Chez l'enfant de moins de 20 kg le besoin transfusionnel est quasi systématique. L'essentiel des effets indésirables restent bénins et sont liés à la mauvaise tolérance clinique de la circulation extracorporelle : hypovolémie (tachycardie, hypotension) et hypocalcémie (utilisation d'anticoagulants citratés).
En dehors des problématiques logistiques et organisationnelles, le principal inconvénient de la PCE est la nécessité, répétée au fil des séances, d'obtenir un bon abord veineux périphérique. La pose du cathéter en elle-même est une difficulté technique importante, notamment chez les patients dont l'atteinte cutanée est sévère (décollements cutanées de la GVH aigües, peau « cartonnée » et sclérodermie de la GVH chronique…). Une autre difficulté est d'assurer un débit suffisant à la réalisation de la cytaphérèse, avec des débits minimum de 5 à 15ml/min, condition d'autant plus difficiles à réaliser chez l'enfant de petit poids que les cathéters sont plus petits et les abords veineux plus difficiles à obtenir. La pose d'une voie veineuse centrale est un recours qui peut permettre la réalisation des prélèvements cellulaires mais qui reste une option à discuter en concertation avec les différentes équipes concernées. Elle nécessite le l'accès à un service de réanimation pour la réalisation du geste et elle expose à un risque infectieux et hémorragique. La gestion de la voie veineuse centrale nécessite de discuter les bénéfices et les risques de son maintien jusqu'à la séance suivante (risque infectieux) ou de son retrait et de la répétition à chaque séance de PCE (risque propre du geste, passage en

réanimation pour la pose…). La nécessité d'une voie veineuse centrale constitue une contrainte qui peut s'opposer à la prise en charge ambulatoire des patients dont l'état de santé pourrait être compatible ou qui peut majorer le mauvais vécus des soins au quotidien par les patients et en particuliers les enfants ou les adolescents.
La population pédiatrique est, en effet, particulièrement fragile face à des soins qui peuvent être perçus comme des contraintes et les séances de PCE peuvent être difficiles à vivre pour ces patients. Les poses répétées de voies veineuses, la durée des séances, le temps d'immobilisation durant la connexion à l'appareillage, l'attente de la réinjection de la suspension cellulaire, sont des vecteurs de stress, de fatigue, de pleurs chez l'enfant. Les conditions favorisant les soins (environnement familial, réalisation des soins dans des services adaptés aux patients…) sont très importantes et doivent être associées aux obligations techniques des soins chez ces patients (soins en secteur protégés, soins sous flux laminaires…).

L'utilisation de la PCE au CHU de Grenoble date du milieu des années 1990, elle concernait d'abord les patients adultes du service d'hématologie clinique puis l'activité pédiatrique de PCE s'est développée. L'utilisation de la technique « ouverte » pour les patients des services de pédiatrie et certains patients d'hématologie adulte, les démarches de contrôle qualité, communes aux deux services, validées par l'accréditation européenne JACIE (Joint Accréditation Committee EBMT-Euro-ISHAGE) du 27/07/2010 de l'activité de greffe de cellules souches hématopoïétiques adulte et pédiatrique, et enfin la dynamique actuelle de prise en charge adaptée des patients adolescents et jeunes adultes, avec le déploiement local d'une unité « Adolescents et Jeunes Adultes » nous ont conduit à nous intéresser dans le cadre de notre étude à la population des enfants, adolescent et adultes de moins de 25 ans. Il est d'ailleurs pertinent de remarquer que dans le cadre des pathologies hématologiques représentées dans notre étude (principalement les lymphomes et les leucémies aigues lymphoblastiques), la population des adolescents et la population des jeunes adultes présentent des formes peu différentes, ce groupe pouvant former une population plus homogène que des cohortes adultes mélangeant des jeunes adultes et des adultes plus âgés ou que des cohortes où d'autres types d'hémopathies sont représentées.

MATERIELS ET METHODES

Nous avons réalisé une étude monocentrique rétrospective dont l'objectif principal était de déterminer si le nombre de cellules mononuclées traitées par PCE était un facteur déterminant de l'efficacité clinique du traitement sur la GVH aigüe et chronique. Nous avons par ailleurs étudié la question de la faisabilité de la PCE chez les patients et les circuits patients face aux contraintes cliniques et techniques, dans le cadre de la démarche qualité JACIE conjointe secteur clinique, adulte et pédiatrique, EFS et thérapie cellulaire.

La population source est constituée par l'ensemble des patients adultes et pédiatriques traités par PCE pour une GVH au CHU de Grenoble. Les critères d'inclusions étaient :

- l'âge des patients : 0 à 25 ans (enfants, adolescents et jeunes adultes).
- la pathologie traitée: maladie du greffon contre l'hôte développée dans les suites d'une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques ou d'une réinfusion de lymphocytes du donneur.
- le traitement : photochimiothérapie extracorporelle selon la technique « ouverte » ou « Vilber Lourmat », quelques soient les traitements antérieurs administrés.
- lieu de prise en charge : réalisation de la PCE au CHU de Grenoble.

Les critères d'exclusion étaient :

- l'utilisation de la technique « fermée » dite « Therakos » pour la réalisation de la PCE.
- l'antécédent d'un traitement par PCE pour une GVH aigüe ou chronique (les patients n'ont été inclus qu'une fois).

Les données évaluées étaient :

- la numération cellulaire des poches de suspension cellulaire prélevée par cytaphérèse. Nous avons recueilli ces données, disponibles et collectées pour tous les patients depuis 2003, auprès de l'Unité Mixte de Thérapie Cellulaire et Tissulaire de l'EFS (*UMTCT*). Nous avons calculé le nombre de total de cellules contenues dans chaque poche et l'avons rapporté au poids du patient. Dans notre centre, toutes les séances de cytaphérèse concernant les patients pédiatriques ont eu lieu dans les unités de soins de pédiatrie. Pour les patients adultes, les séances ont eu lieu dans les unités de soins du

service d'hématologie ou à l'EFS. Les poches de suspension cellulaire prélevées sont alors traitées à l'UMTCT – site de Saint Ismier, avant d'être réinfusées au patient.

- le diagnostic de GVH aigüe ou chronique et la classification de la gravité clinique de la GVH avant et après la réalisation de la PCE (classification de Glucksberg pour la GVH aigüe, classification NIH pour la GVH chronique) portés dans les dossiers médicaux des patients. Nous avons collecté les données de la gravité clinique de la GVH 15 jours après la fin de la série de séances de PCE. Les réponses complètes ont été définies comme la disparition des symptômes pour tous les organes atteints, les réponses partielles par l'amélioration d'au moins une atteinte d'organe sans progression des autres atteintes, et les mauvaise réponses par l'absence de réponse complète ou partielle d'au moins une atteinte d'organe ou la progression d'au moins une atteinte quelle que soit l'évolution des autres symptômes.
- nous avons recherché l'existence d'un calendrier thérapeutique prévisionnel des séances de PCE pour chaque patient et avons vérifié l'application de ce calendrier et avons collecté les motifs de non réalisation des séances à la date prévue.

Nous avons ensuite réalisé l'analyse des données collectées. L'analyse descriptive des données rapporte les moyennes, médianes et valeurs extrêmes des variables quantitatives et les pourcentages des variables qualitatives. L'analyse comparative des données étudiées a été faite par des tests de variance et de Kruskall Wallis, et par test de Fisher. Pour l'ensemble des analyses le risque alpha a été fixé à 5%. Les analyses statistiques ont été faites avec le logiciel *Epidata analysis 2*.

RESULTATS

Nous avons pu inclure dans notre étude 20 patients, traités entre 2003 et 2012.

7 patients (35%) sont des femmes et 13 (65%) sont des hommes. L'âge moyen est de 15 ans (1 - 25, médiane : 15,5 ans). 13 patients ont moins de 18 ans (1 -18, âge moyen=11) et 7 patients ont plus de 18 ans (19 - 25, âge moyen =22,5). 13 patients (65%) ont été traités pour une GVH aigüe et 7 patients (35%) traités pour une GVH chronique.

Concernant le diagnostic de l'hémopathie indiquant la greffe, 45% (n=9) sont des LAL. Chez les plus de 18 ans, on retrouve 5 cas de LAL (71%) et 2 cas de lymphomes lymphoblastiques (29%). Chez les moins de 18 ans, les LAL représentent 31% des cas (n=4), les LAM 15% (n=2), les monosomies 7 15% (n=2) et on retrouve avec la même proportion de 8% (n=1) des cas de LMC, leucémies à cellules dendritiques, anémie de Fanconi, aplasie médullaire idiopathique et HPN.

Le conditionnement pré greffe a associé dans 10 cas sur 20 (50%) une irradiation corporelle totale (ou *ICT*) au cyclophosphamide (n=6) ou au cyclophosphamide et un autre produit (n=4). Chez les moins de 18 ans, l'ICT a été utilisé dans 39% des cas (n=5) et chez les plus de 18 ans, dans 71% des cas (n=5) (p=0,3). Les caractéristiques générales des patients sont résumées dans le tableau II.

Le diagnostic de GVH a été posé après la réalisation de biopsies cutanées et/ou hépatiques et/ou digestives chez 10 patients sur 20, les atteintes pulmonaires ont été explorées systématiquement par des EFR et un TDM et dans 3 cas sur 4 par réalisation d'un lavage broncho-alvéolaire. Une atteinte médullaire été retenue après un diagnostic de pancytopénie fébrile avec un myélogramme évocateur (hyperéosinophilie, sans syndrome d'activation lymphohistiocytaire, ni blastose), en l'absence de tout autre diagnostic différentiel retenu au cours de l'évolution. Dans les autres cas, les diagnostics ont été portés sur les atteintes cliniques.

Les évaluations cliniques des manifestations de la GVH et des atteintes d'organes avant et après la PCE sont résumées dans le tableau III.

Tableau II :

Tableau des caractéristiques générales des patients.

	GVH Aigüe	GVH Chronique
Patients	13	7
Sexe M/F	10/3	3/4
Âge (ans)	14 (1-24)	16 (11-25)
Diagnostic		
Anémie de Fanconi	0	1
Aplasie Médullaire Idiopathique	1	0
HPN	0	1
Leucémie Aigüe Lymphoblastique	6	3
Leucémie Aigüe Myéloblastique	2	0
Leucémie Myéloïde Chronique	0	1
Leucémie à cellules dendritiques	0	1
Lymphomes	2	0
Monosomie 7	2	0
Greffon		
CSP	5	2
MO	6	3
USP	2	1
DLI	0	1
Donneur		
Apparenté/ Non apparenté	6/7	3/4
Conditionnement prégreffe		
ICT +cyclophosphamide	6	0
ICT +cyclophosphamide +autre[a]	2	2
Cyclophosphamide +busulfan	1	0
Cyclophosphamide + busulfan +autre[b]	2	2
Cyclophosphamide + SAL	0	1
Cyclophosphamide +SAL +fludarabine	1	0
Autre[c]	1	1
Absence (DLI)	0	1
Prophylaxie GVH		
Ciclosporine	5	3
Ciclosporine + MMF	4	1
Ciclosporine + MTX	2	2
Ciclosporine puis Everolimus	1	0
Ciclosporine puis MMF	1	0
Pas de prophylaxie (DLI)	0	1
Traitements préalables à la PCE		
Corticoïdes	8	3
Corticoides + tacrolimus	1	1
Corticoïdes + tacrolimus + éverolimus	0	1
Corticoides + tacrolimus + MMF	0	1
Corticïdes + inolimab ou daclizumab	1	1
Corticoïdes + MMF + infliximab +autre[d]	2	0
Corticöides + tacrolimus + MMF +autre[e]	1	0

HPN= Hémoglobinurie paroxystique nocturne, CSP=cellules souches périphériques, MO=moelle osseuse, USP= unité de sang placentaire, DLI= réinfusion de lymphocytes du donneur, ICT= irradiation coporelle totale, SAL= sérum antilymphocytaire, [a]= SAL ou alemtuzumab ou fludarabine, [b]= SAL ou fludarabine ou fludarabine +SAL, [c]=busulfan +melphalan +cytarabine ou fludarabine +alermtuzumab +cytarabine +idarubicine, [d]= tacrolimus ou inolimomab + alemtuzumab, [e]= sirolimus + thymoglobulines + Méthotrexate.

Tableau III:

Evaluation des atteintes organiques de la GVH avant et après la PCE.

Scores de gravité	Avant PCE	Après la PCE
Peau		
Score 0 (Glucksberg)	2	9
Score 1-2 (Glucksberg)	3	3
Score 3-4 (Glucksberg)	8	1
Score 0 (NIH)	1	4
Score 1 (NIH)	0	1
Score 2 (NIH)	4	2
Score 3 (NIH)	2	0
Foie		
Score 0 (Glucksberg)	0	1
Score 1-2 (Glucksberg)	1	0
Score 3-4 (Glucksberg)	0	0
Tube digestif		
Score 0 (Glucksberg)	7	11
Score 1-2 (Glucksberg)	2	0
Score 3-4 (Glucksberg)	4	2
Score 0 (NIH)	5	6
Score 1 (NIH)	0	0
Score 2 (NIH)	0	0
Score 3 (NIH)	2	1
Moelle		
Inactive	19	20
Active	1	0
Poumons		
Score 0 (NIH)	3	3
Score 1 (NIH)	1	1
Score 2 (NIH)	2	0
Score 3 (NIH)	1	3
Muqueuses		
Score 0 (NIH)	5	5
Score 1 (NIH)	0	1
Score 2 (NIH)	1	0
Score 3 (NIH)	1	1
Oeil		
Score 0 (NIH)	5	5
Score 1 (NIH)	0	0
Score 2 (NIH)	0	1
Score 3 (NIH)	2	1
Atteinte Globale		
Grade 0 (Glucksberg)		8
Grade I-II (Glucksberg)	8	3
Grade III-IV (Glucksberg)	5	2
Asymptomatique		1
Légère (NIH)	0	0
Modérée (NIH)	2	2
Sévère (NIH)	5	4

Les patients avec une GVH aigüe avaient tous une maladie de grade II à IV selon la classification de Glucksberg, la GVH était réfractaire à un traitement par corticostéroïdes (1 à 2 mg/kg/j pendant au moins 5 jours) dans 11 cas sur 13 (1 patient a été traité par PCE en première ligne, en association aux corticoïdes pour diminuer le plus vite possible les immunosuppresseurs en raison d'une varicelle déclarée après le début du conditionnement, 1 patient a été traité en première ligne par une association corticoïdes et MMF). Les patients avec une GVH chronique ont tous été traités avec des corticoïdes pendant au moins 15 jours, mais 1 patiente a été traitée en première ligne par une association corticoïdes et daclizumab. 14 patients ont eu une dose initiale de methylprednisolone de 2mg/kg/j, 6 ont eu une dose de 1 mg/kg. La dose de corticoïdes a été augmentée de 1 mg/kg/j chez 4 de ces patients lors de l'association à un traitement de deuxième ligne, pour les autres la dose n'a pas été modifiée. Les traitements préalables à la PCE ont permis de résoudre des atteintes cutanées chez 2 patients, et des anomalies biologiques hépatiques non considérées comme suspectes de GVH chez 2 patients ont régressé après le début du traitement par corticoïde. Les patients greffés avec une compatibilité 10/10 ou 6/6 ont présenté 33% (n=3) de GVH aigües grade III ou IV contre 50% (n=2) des patients compatibles 9/10 ou 5/6 (p=0,6). Les GVH chroniques étaient classées comme sévères chez 60% (n=3) des patients compatibles 10/10 ou 6/6 et chez 100% (n=2) des patients compatibles 9/10 ou 5/6 (p=0,3).

Nous avons collecté les données de 125 séances de PCE, 84 pour les GVH aigües et 41 pour les GVH chroniques. Les tableaux IV et V résument les caractéristiques du traitement par PCE pour chacun des patients.

Parmi la population des patients traités pour une GVH aigüe, l'un d'entre eux (patient 3) a été pris en charge dans un centre de greffe ne pratiquant pas la PCE et a été adressé au CHU de Grenoble après l'échec de 5 lignes de traitement et l'une d'entre eux (patiente 7) a présenté une GVH aigüe tardive sans manifestations cliniques de GVH chronique, apparue après l'arrêt des immunosuppresseurs à 6 mois post greffe. 1 patiente (patiente 15) était âgée de 16 mois au début de la PCE et pesait 8,5kg. 1 autre (patient 9) était âgé de 3 ans et pesait 14 kg.

Tableau IV:

Caractéristiques des procédures de PCE pour les patients présentant une GVH aigüe.

	Âge (ans)	Poids (Kg)	Délai GVH-PCE (jours)	Ligne	Nombre de séances	Durée de la de PCE (jours)	Total des cellules ($x10^9$)	Grade[a] GVH avant la PCE	Réponse
Pat. 1	20	56	9	2	6	19	18,36	II	PR
Pat. 3	24	86	54	6	6	15	27,75	IV	PR
Pat. 4	22	58	12	2	7	54	29,31	III	RP
Pat. 6	22	72	20	2	6	22	11,25	II	RC
Pat. 7	19	57	42	2	6	23	33,51	II	RC
Pat. 9	3	14	22	2	8	22	6,51	II	RC
Pat. 12	9	36	6	1	4	15	12,31	II	RC
Pat. 13	8	54	15	2	6	39	27,46	I	RC
Pat. 14	17	69	14	2	5	20	16,31	II	PR
Pat. 15	1	8.5	41	4	7	95	5,73	IV	RC
Pat. 17	17	64	4	2	6	21	42,59	II	RC
Pat. 19	12	45	54	4	6	21	17,99	IV	RC
Pat. 20	8	25	35	3	11	22	6,72	IV	PR

PR= pas de réponse, RP= réponse partielle, RC= réponse complète, [a]= classification de Glucksberg.

Tableau V:

Caractéristiques des procédures de PCE pour les patients présentant une GVH chronique.

	Âge (ans)	Poids (Kg)	Délai GVH-PCE (mois)	Ligne	Nombre de séances	Durée de la période de PCE	Total des cellules ($x10^9$)	Grade[a] GVH avant la PCE	Réponse
Pat. 2	24	79	4	3	7	31	49.65	modérée	PR
Pat. 5	25	52	57	3	6	25	85.65	sévère	PR
Pat. 8	11	25	26	3	6	21	16.92	sévère	PR
Pat. 10	18	52	1	2	6	28	50.77	sévère	PR
Pat. 11	13	41	1	2	6	22	44.45	sévère	PR
Pat. 16	14	40	2	2	4	22	8.67	modérée	RC
Pat. 18	11	37	5	2	6	25	15.36	sévère	RP

PR= pas de réponse, RP= réponse partielle, RC= réponse complète, [a]= classification NIH.

Chez les patients atteints de GVH chronique, on remarquera en particulier le patient 5, diagnostiqué et greffé en Algérie qui a présenté une GVH chronique (quiescente) à M9 et traité pendant près de 5 ans par une alternance de ciclosporine et de corticoïdes, avant de venir en France afin de bénéficier d'un autre traitement. On remarquera aussi la patiente 8 qui a présenté une GVH chronique pulmonaire longtemps corticodépendante (2 ans) avant d'échapper au traitement par corticoïdes et se voir proposer un traitement par PCE.

La position moyenne de la PCE dans l'arbre thérapeutique des patients (ligne de traitement) est 2,55 (1- 6) pour la population globale, 2,62 pour les GVH aigües (1 - 6), et 2,43 pour les GVH chroniques (2 - 3) (p=0,7). Cette moyenne est de 2,38 (1-4) pour les moins de 18 ans et de 2,86 (2-6) pour les plus de 18 ans (p=0,4).
Le nombre moyen de séances réalisées a été de 6,25 (4 - 11) pour l'ensemble des patients, de 6,46 (4 - 11) pour les GVH aigües et de 5,86 (4 à 7) pour les GVH chroniques (p=0,4). Il est de 6,23 séances (4-11) pour les moins de 18 ans et de 6,29 (6-7) pour les plus de 18 ans (p=0,9).
Le délai moyen de début de la PCE après le diagnostic de la GVH est de 25 jours (4 - 54) pour la GVH aigüe et de 14 mois (1 à 57, médiane=4 mois) pour la GVH chronique.

Sur les 20 patients traités, 9 ont présenté une réponse complète (autorisant l'arrêt des corticoïdes et des autres immunosuppresseurs chez 8 patients, avec poursuite des corticoïdes pour le traitement d'une hépatite auto-immune chez 1 patient), 2 une réponse partielle et 7 sont non répondeurs. 2 patients (patients 1 et 2) ont présenté une réponse précoce pendant le traitement de leur GVH (patiente 1 : GVH aigüe II, cutanée 3 ; patient 2 : GVH chronique modérée avec atteinte cutanée modérée) mais les symptômes sont réapparus moins de 15 jours après la fin du traitement (patiente1 : GVH aigüe II, cutanée 3 et digestive 1 ; patient 2 : réactivation atteinte cutanée chronique) : la patiente 1 a bénéficié de 8 séances supplémentaires de PCE avec obtention d'une réponse complète, le patient 2 s'est vu proposer un traitement par MMF conduisant à un contrôle de la GVH chronique et un arrêt des immunosuppresseurs à 6 mois. Malgré la bonne réponse initiale de ces 2 patients, ils sont classés comme non répondeurs compte tenue de la réactivation de leur GVH avant le délai d'évaluation de la réponse.
Parmi les 13 patients avec une GVH aigüe, 8 ont répondu complètement (61 %), 1 a présenté une réponse partielle (8%) et 4 sont non répondeurs (31%). Parmi les 7 patients avec une GVH chronique, 1 a répondu complètement (14%), 1 patient a répondu partiellement (14%) et 5 sont non répondeurs (62%). Pour les analyses statistiques comparatives, compte tenu du petit nombre de patients inclus dans l'étude et du faible nombre de patients en réponse partielle, nous avons associé les patients en réponse complète et les patients en réponse partielle dans un groupe de patients « répondeurs ».
Dans notre cohorte, les taux de réponse à la PCE aigüe sont meilleurs que ceux de la GVH chronique (69% et 29%), les GVH aigües grade I-II répondent mieux que les grades III-IV (75% et 60%) et les GVH chroniques modérées répondent mieux que les sévères (50% et

20%), mais sans significativité statistique. Les tableaux VI et VII résument les taux de réponses en fonction du type de GVH et de la gravité de la GVH au début du traitement.

Tableau VI :

Réponse à la PCE selon le type de GVH.

GVH	Bonne Réponse	Mauvaise réponse	Total	Tests statistiques
GVHa	9 (69%)	4 (31%)	13	p^1>0,1
GVHc	2 (29%)	5 (71%)	7	RR = 0.41 (IC 95%: 0.12-1.41)
	11 (55%)	9 (45%)	20	NS

p^1 : test de Fisher. NS= non significatif.

Tableau VII :

Réponse à la PCE selon la gravité de la GVH.

GVH	Grade	Bonne réponse	Mauvaise réponse	Total	Tests statistiques
GVHa	I-II	6 (75%)	2 (25%)	8	p^1>0,5
	III-IV	3 (60%)	2 (40%)	5	RR= 0.80 (95% CI: 0.35-1.82)
	Total	9	4	13	NS
GVHc	modérée	1 (50%)	1 (50%)	5	p^1>0,5
	sévère	1 (20%)	4 (80%)	2	RR = 0.40 (95% CI: 0.04-3.74)
	Total	2	5	7	NS

p^1 : test de Fisher. NS= non significatif.

Chez les patients avec une GVH aigüe, l'étude comparative de la moyenne du nombre de cellules (nombre de cellules/poids du patient) dans les suspensions cellulaires traitées permet de retrouver avec une bonne significativité une richesse plus importante chez les patients répondeurs à la PCE (moyenne=478x10^6 cellules par/kg) que chez les non répondeurs (287x10^6 cellules par/kg) (p=0,047, test de l'Anova et p=0,03, test de Kruskall Wallis). (Tableau VIII). Pour les atteintes cutanées et digestives aigües, le nombre moyen de cellules traitées des patients répondeurs est plus élevé que chez les non répondeurs mais la différence n'est pas statistiquement significative.

Pour la GVH chronique, dans l'atteinte globale et l'atteinte pulmonaire, la moyenne du nombre de cellules traitées est plus élevée en cas de non réponse, et elle est plus élevée en cas de réponse cutanée, mais les différences ne sont pas significatives. (Tableau VIII).

Tableau VIII :

Comparaison des moyennes de cellules traitées/poids du patient en fonction de la réponse à la PCE.

GVH	Organe	Réponse à la PCE	Patients	Moyenne cellules traitées/poids (10^6/kg)	
GVHa	**Atteinte Globale**	oui	9	**478**	**p^1<0,05**
		non	4	**287**	**p^2<0,05**
	Peau	oui	7	**451**	p^1>0,1
		non	4	**346**	p^2>0,1
	TD	oui	4	**433**	p^1>0,1
		non	2	**296**	p^2>0,1

$p^{1:}$ test de l'ANOVA; $p^{2:}$ test de Kruskall Wallis. TD=tube digestif.

GVHc	Atteinte Globale	oui	2	**319**	p^1>0,05
		non	5	**1002**	p^2>0,05
	Peau	oui	5	**869**	p^1>0,5
		non	1	**628**	p^2>0,5
	Poumons	oui	1	**421**	p^1>0,1
		non	3	**912**	p^2>0,1

$p^{1:}$ test de l'ANOVA; $p^{2:}$ test de Kruskall Wallis.

Le délai moyen de suivi « post-PCE » est de 37 mois (1-120, médiane=26) pour l'ensemble des patients, de 24 mois (1-79, médiane=12) pour les GVH aigües, et de 61 mois (2-120, médiane=72) pour les GVH chroniques.

La survie globale est de 50% (n=10 décès, délai moyen= 9 mois). Chez les patients traités pour une GVH aigües, le taux global de survie est de 39% (n=5), il est de 71% (n=5) chez les patients avec une GVH chronique (p=0,3). Le délai moyen de survenue du décès est de 10,6 mois pour les GVH aigües et de 4,5 pour les GVH chroniques (p=0,6). Les GVH aigües sévères III-IV ont un taux de survie de 20% (n=1) contre 60% (n=3) pour les GVH aigües I-II (p=0,3). Pour les GVH chroniques sévères, le taux de survie est de 40% (n=2) contre un taux à 100% (n=2) en cas d'atteinte modérée (p=0,3).

Chez les patients répondeurs, le taux de survie est de 55% (n=6) contre 44% (n=4) chez les patients non répondeurs (p=0,7). En cas de bonne réponse à la PCE, le taux de survie a été de 44% (n=4) pour les GVH aigües et 100% (n=2) pour les GVH chroniques (p=0,5); en cas de mauvaise réponse, le taux de survie est de 25% (n=1) pour les GVH aigües et de 60% (n=3) pour les GVH chroniques (p=0,3). Le délai moyen de survenue du décès est de 9 mois (1-37, médiane=2) chez les patients répondeurs et de 10 mois (1-28, médiane=6) chez les non répondeurs.

La survie globale chez les moins de 18 ans (13 patients) est de 46% (n=6) contre 57% (n=4) chez les plus de 18 ans (p=0,6). Parmi les 10 décès, on retrouve 3 décès causés par la GVH, 3 par infection (2 aspergilloses sous immunosuppresseurs et 1 septicémie après l'arrêt des immunosuppresseurs) et 4 par rechute de l'hémopathie (3 patients ayant répondu à la PCE, 1 patient non répondeur). Le Tableau IX résume les caractéristiques des décès. Les Figure 1, 2 et 3 présentent les courbes de survie globale, selon la GVH et selon la réponse au traitement.

Tableau IX :

Tableau des décès des patients.

Patient	GVH	Réponse PCE	Décès	Délais (mois)
Patient 3	Aigüe	PR	GVH	1
Patient 14	Aigüe	PR	GVH	28
Patient 20	Aigüe	PR	GVH	3
Patient 4	Aigüe	RP	Rechute	2
Patient 13	Aigüe	RC	Rechute	2
Patient 17	Aigüe	RC	Rechute	37
Patient 6	Aigüe	RC	Infection	1
Patient 19	Aigüe	RC	Infection	6
Patient 10	Chronique	PR	Rechute	7
Patient 11	Chronique	PR	Infection	2

PR= pas de réponse, RP= réponse partielle, RC= réponse complète.

Figure 2 :

Courbe de survie globale.

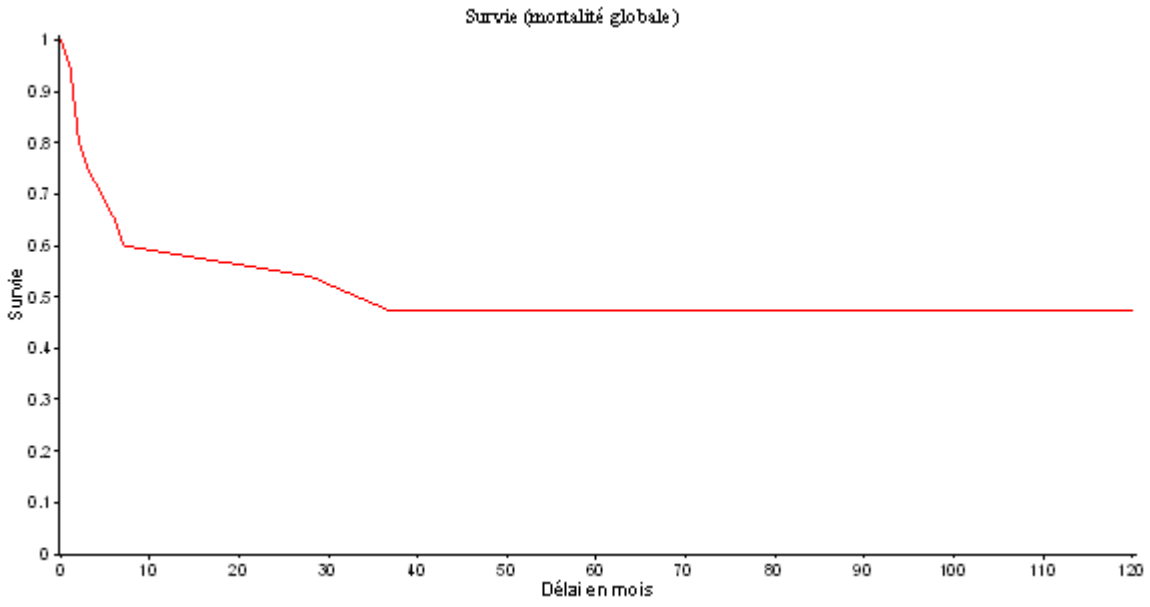
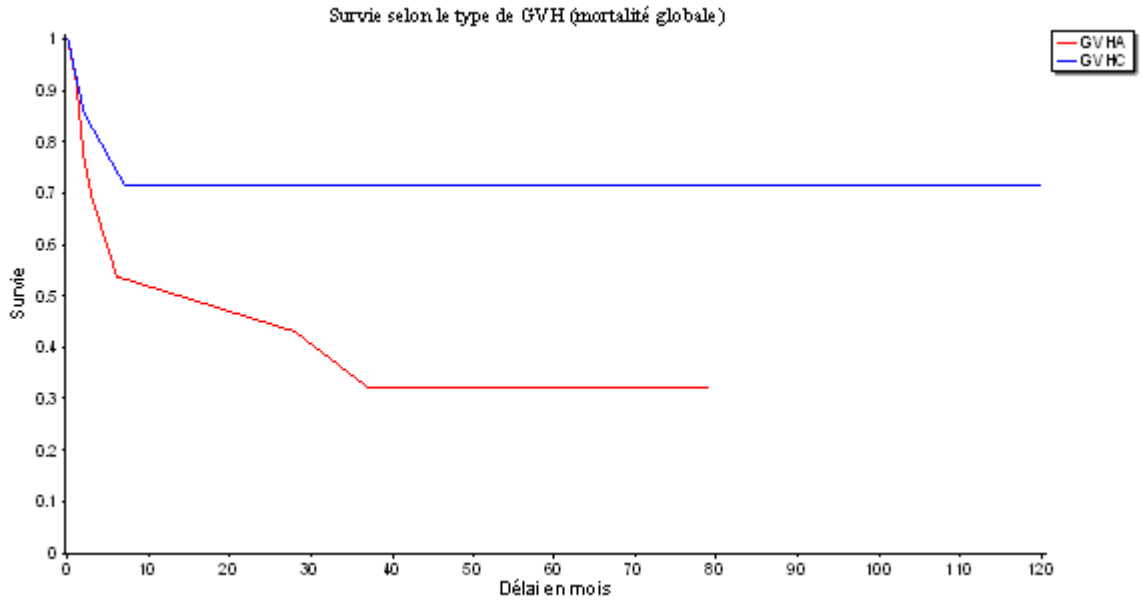


Figure 3:

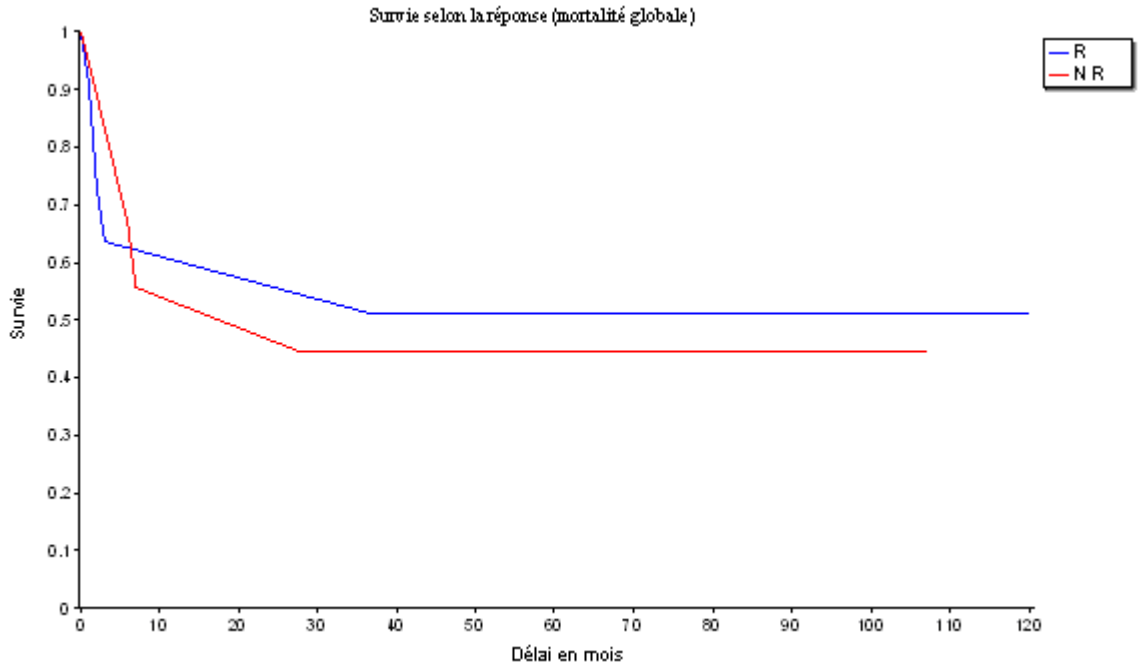
Courbe de survie selon le type de GVH.



Test de Log Rank: p=0,4.

Figure 4 :

Courbe de survie selon la réponse à la PCE.



R= Répondeur, NR= Non répondeur. Test de Log Rank: p=0,4.

Le recueil des informations ne nous a permis de retrouver un calendrier thérapeutique prévisionnel des séances de PCE que chez 1 patient sur 20. Toutefois, les pratiques au CHU de Grenoble concernant la PCE chez l'enfant et chez l'adulte sont héritées du « protocole » historique d'Andreu : réalisation d'un « traitement d'attaque » de 2 séances hebdomadaires pendant une période de 3 à 4 semaines, puis au terme d'un intervalle de temps de 2 à 4 semaines, évaluation conduisant à définir la suite du traitement. En cas d'échec, la PCE est abandonnée et en cas de bonne réponse, le traitement peut être poursuivi par un « traitement d'entretien » avec une décroissance progressive de la fréquence des séances [Garban *et al*. 2005]. Cette pratique locale a été confirmée par la rédaction et la diffusion en 2013 d'un protocole commun aux services adultes et pédiatriques définissant le nombre et le rythme des séances de PCE : traitement d'attaque de 6 séances en 3 semaines, délai d'évaluation minimal de 15 jours et éventuel traitement hebdomadaire d'entretien. Par ailleurs, le schéma défini par l'étude *Photgraft1* [Merlin *et al*.] (3 séances hebdomadaires pendant 2 semaines, avant une première évaluation de la réponse et la poursuite éventuelle du traitement), constitue un schéma utilisable comme modèle pour les patients pédiatriques (même s'ils ne sont pas inclus dans l'étude) mais sa faisabilité reste à démontrer, notamment en terme de voie d'abord veineux chez les enfants de petit poids pour le traitement d'attaque. 1 patient parmi les 13 cas pédiatriques de notre cohorte a été inclus dans le protocole *Photograft1* mais le rythme de ses séances de PCE n'a pas pu être respecté. 1 autre patient pédiatrique a lui pu bénéficier de séances au rythme de 3 par semaines (sans inclusion à ce même protocole).

Le délai moyen de réalisation de toutes les séances de chaque patient est de 28 jours (15-95, médiane=22 jours). Le délai moyen entre 2 séances est de 4,5 jours (2-13,5 ; médiane=3,8 jours).

Parmi les 20 patients traités, 8 ont eu l'ensemble de leurs séances selon un rythme régulier (de 2 séances par semaine pour 6 patients, 1 séance par semaine pour 1 patient et 3 séances par semaine pour 1 patient). Cela concerne: 31% (n=4) des patients de moins de 18 ans et 57% (n=4) des patients de plus de 18 ans (p=0,4); 31% (n=4) des GVH aigües et 57% (n=4) des GVH chroniques (p=0,25) ; 30% (n=3) des patients avec une GVH peu sévère (grade I-II ou GVHc modérée) et 50% (n=5) des patients avec une GVH sévère (grade III-IV ou GVHc sévère) (p=0,36) ; 33% (n=2) des moins de 40kg et 43% (n=6) des plus de 40kg (p=0,69). Les patients plus jeunes ou présentant une GVH plus sévère ou ayant un plus petits poids sont ceux chez qui le rythme de réalisation des séances a été le plus difficile à suivre, bien que ces différences ne soient pas statistiquement significatives. Chez les 12 autres patients, la

proportion des séances réalisées dans un rythme régulier par rapport aux séances précédentes est de 55% (n=34).

Parmi les 105 séances de PCE réalisées au delà du J1 (première séance de PCE), 77 (73%) se sont faites selon le rythme attendu du calendrier thérapeutique. Chez les patients de moins de 18 ans, 48 séances sur 68 (71%) ont été réalisées dans les délais prévisibles alors que chez les plus de 18 ans, on en compte 29 sur 37 (78%) (p=0,46).

Concernant les 28 séances de PCE qui n'ont pas été réalisées selon le calendrier attendu : 3 séances (11%) ont été reportées dans un contexte de septicémie, 5 séances (18%) ont été annulées pour impossibilité de trouver une voie d'abord (3 séances pour un patient de 17 ans, avec une atteinte cutanée aigüe grade 4 ; 2 séances pour une patiente de 1 an, dans un contexte d'instabilité hémodynamique sur une GVH digestive aiguë grade 4). Pour les autres séances décalées, le recueil de données ne permet pas d'établir les causes du décalage.

Pour 3 des patients pédiatriques (patients 9, 15, 20), les séances se sont faites uniquement dans le service de réanimation pédiatrique. 2 patients parmi les 3 ont été hospitalisés en réanimation pour la prise en charge de GVH aigues grades 4 digestives avec altération majeure de l'état général et défaillances viscérales. 1 des 2 patients est sorti du service de réanimation avant la fin de la PCE mais y a poursuivi ses séances en raison des risques liés à son petit poids (8,5kg), des risques très importants de mauvaise tolérance de la circulation extracorporelle), du recours systématique à une seconde voie veineuse centrale. Le 3ème patient a été systématiquement pris en charge en réanimation pour la réalisation des séances en raison de son petit poids (14kg), pour la gestion de la voie d'abord (pose de voie veineuse centrale systématique, mobilisation d'un médecin pédiatrique, d'une IDE et du médecin responsable de l'aphérèse). L'analyse du déroulement des séances ne montre pas d'effets indésirables sévères imputables aux procédures de PCE. Il a juste été constaté une diffusion de voie veineuse périphérique en fin de réinfusion chez un patient sans conséquence particulière ni perte de volume de suspension cellulaire significatif.

DISCUSSION

Notre étude avait pour objectif principal d'étudier l'impact du nombre de cellules traitées sur l'efficacité clinique de la PCE dans le traitement de la GVH chez les enfants, adolescents et jeunes adultes en analysant les données recueillies chez des patients traités au CHU de Grenoble pendant une période de près de 10 ans.

Pour la GVH aigüe, l'analyse statistique comparative montre de façon significative ($p<0,05$) que la moyenne du nombre de cellules traitées (nombre de cellules/poids du patient) est plus grande chez les patients répondeurs que chez les patients non répondeurs, donnée qui à notre connaissance n'a jamais été publiée. La même analyse, organe par organe, concernant les réponses spécifiques des atteintes retrouve pour la peau et le tube digestif des moyennes plus grandes chez les patients répondeurs que chez les non répondeurs, mais avec des différences non significatives. Nous retrouvons donc un lien statistique entre le nombre de cellules traitées et l'efficacité du traitement dans la GVH aigüe; mais si on comptabilise plus de cellules dans les cas de bonne réponse au traitement, il est impossible, compte tenu de la distribution de notre population, de prouver que l'augmentation du nombre de cellules traitées s'accompagne de l'augmentation de la proportion de bonnes réponses ni de définir un seuil de richesse cellulaire prédictif d'une bonne réponse avec une bonne valeur significative.

Pour la GVH chronique, on retrouve une moyenne du nombre de cellules traitées plus grandes chez les patients non répondeurs que chez les patients répondeurs mais sans que la différence soit statistiquement significative. Pour l'atteinte cutanée, les patients répondeurs ont une moyenne plus grande ; pour l'atteinte pulmonaire, la moyenne du nombre de cellules est plus grande chez les patients non répondeurs. Ces résultats sont contraires à l'hypothèse que nous nous proposions de vérifier et incompatibles avec les données actuelles expliquant les mécanismes d'action de la PCE, et des éléments de réponse explicatifs pourraient être trouvés dans l'analyse de la situation clinique de certains patients. En effet, parmi les 7 patients traités pour une GVH chronique, 3 patients (patients 5, 8,10) ont été traités par PCE plusieurs années après leur greffe de CSH. 1 patient était resté en situation d'échec thérapeutique de sa GVH chronique (atteinte sévère cutanées, muqueuse et ophtalmo, pas d'atteinte pulmonaire) pendant près de 5 ans en Algérie, 1 patiente a été pour une GVH pulmonaire sévère corticodépendante échappant au traitement après 2 ans de traitement et 1 patiente (atteinte pulmonaire sévère) a bénéficié d'une DLI à 7 ans post greffe pour une rechute de sa leucémie à cellules dendritiques. Ces délais inhabituels entre la greffe ou l'apparition de la GVH

chronique et le début de la PCE nous laissent supposer que :1/ la reconstitution de l'hématopoïèse de ces patients était plus aboutie et donc les prélèvements cellulaires beaucoup plus riches que la majorité des patients (traités avec des délais post greffe beaucoup plus courts) 2/ ces GVH chroniques anciennes et réfractaires aux traitements antérieurs peuvent être plus difficiles à traiter, 3/nous sommes donc confrontés à des formes plus graves avec un risque plus important de ne pas répondre à la PCE et avec une capacité de prélèvement cellulaire beaucoup plus grande

Tous ces résultats doivent aussi être pondérés en raison de l'existence de biais liés à la méthodologie employée et principalement des facteurs de confusion de l'analyse de la réponse au traitement. Ces principaux facteurs de confusion identifiables sont la dose initiale des corticoïdes, le délai de diagnostic de la corticorésistance, la poursuite ou l'arrêt d'un ou des traitements administrés lors du démarrage de la PCE, le délai et la vitesse de diminution des corticoïdes. De plus, l'absence de critères consensuels et validés de définition des réponses complètes et partielles (manifestations cliniques, exigences sur les traitements immunosuppresseurs associés, délai de l'évaluation de la réponse) limitent la comparaison des données sur la réponse clinique avec les séries publiées. La définition de tels critères apparaît donc comme nécessaire à la fois pour les procédures locales et les études prospectives.

En l'absence de rationnel scientifique documenté établissant le lien entre le nombre de cellules traitées et l'efficacité de la PCE, et d'effectif suffisant sur cette étude rétrospective monocentrique pour le démontrer, il semble néanmoins important que cette hypothèse de travail soit prise en compte dans les travaux prospectifs à venir.

Le déploiement dans le monde des 2 techniques de PCE tient pour beaucoup de l'historique de son développement et à ses modalités pratiques. La technique « Therakos » développée aux Etats-Unis a été la première à s'implanter sur le marché, elle reste la plus utilisée dans le monde, et a l'avantage de ne nécessiter qu'un seul dispositif pour réaliser l'ensemble des étapes de la photophérèse. La technique « Vilber Lourmat » développée en France nécessite deux appareillages distincts et la collaboration d'un laboratoire de Thérapie Cellulaire pour le traitement des poches de suspension cellulaire. Elle apparaît donc comme plus complexe à mettre en œuvre mais elle permet de contrôler le produit thérapeutique délivré.

En l'absence de données prouvant une meilleure efficacité de l'un ou de l'autre des systèmes, le choix de l'utilisation de l'un ou de l'autre repose sur d'éventuels besoin liés à l'activité des centres (appareillage adapté à une population pédiatrique…) mais peut aussi reposer sur des critères plus pragmatiques comme l'aspect économique. L'importance des politiques de santé

en terme d' économies de santé pourrait rendre à terme incompatible la coexistence des deux techniques dans un même centre (multiplications des coûts d'entretien, des dispositifs consommables, des besoins humains…) et la décision d'un choix unique de l'une ou de l'autre des techniques pourrait se faire sans prendre en compte les différences des paramètres techniques, ni leurs impacts potentiels sur l'efficacité du traitement (par exemple : la composition cellulaire des suspensions traitées).

La recherche de la diminution des effets indésirables est aussi un enjeu de l'innovation technique des dernières générations d'appareils dédiés. L'évolution tend vers une diminution des volumes sanguins traités lors des séances de PCE, pour permettre de diminuer la durée des séances mais cela pourrait peut-être diminuer la richesse cellulaire des suspensions. L'utilisation de l'héparine comme anticoagulant à la place d'un anticoagulant citraté peut diminuer le risque de survenue d'une hypocalcémie mais l'héparine peut altérer la qualité de la suspension et modifier les capacités de collecte du dispositif. Il n'existe aucune preuve que les performances thérapeutiques de la PCE ne seront pas modifiées par ces changements.

A défaut d'apporter une réponse définitive à la question que nous nous posions, les résultats de notre étude pourraient constituer le prérequis d'études contrôlées, multicentriques, supportées par une construction méthodologique adaptée et permettant de répondre à des questions précises en limitant les biais.

L'objectif secondaire de notre étude était d'étudier la faisabilité de la PCE face aux contraintes cliniques liées aux patients et aux contraintes techniques des procédures. Dans l'analyse des données nous avons été confrontés à la difficulté de traçabilité de certaines données du fait du caractère rétrospectif de l'étude. Il s'agit principalement de la description des conditions de réalisation des séances, de la voie veineuse choisie et des modalités de pose, et des motifs de non réalisation des séances. 8 des 28 reports de séances (29%) sont justifiés : 3 reports dans un contexte de septicémie incompatible avec la réalisation des séances, 5 reports pour difficultés d'abord veineux dont 2 annulée au lit du patient. Pour les 20 autres séances (71%), l'absence de données ne nous permet pas de distinguer une décision réfléchie (par exemple : baisser le rythme des séances chez un patient bon répondeur afin de favoriser une meilleure tolérance clinique des procédures) d'une difficulté faisant obstacle à la réalisation de la séance (abords veineux difficiles, gravité de l'état clinique du patient incompatible avec la réalisation des séances, mauvaise tolérance des séances…).

Nous n'avons pas retrouvé dans la littérature de données décrivant les conditions de faisabilité des séances afin de les comparer à nos résultats.

Dans la recherche d'une optimisation du traitement, la gestion des problèmes de faisabilité est un enjeu important aussi il nous semble important de commenter dans quelle mesure les démarches de qualité ou l'organisation d'un circuit de soins favorisent la mise en place de la PCE dans les cas les plus difficiles. Nous allons nous appuyer plus particulièrement sur la situation de l'activité pédiatrique de PCE au CHU de Grenoble. Comme nous l'avions déjà dit, l'activité de greffe de cellules souches hématopoïétiques adulte et pédiatrique du CHU de Grenoble a reçu l'accréditation européenne JACIE et dans ce cadre là, un protocole commun définissant les indications et les modalités pratiques de réalisation de la PCE a été rédigé. En outre, les indications de PCE sont discutées lors de concertations par une validation collégiale.

Le service d'Immuno-hémato-oncologie pédiatrique est l'unité d'hospitalisation dont dépendent les patients pédiatriques chez qui sont réalisées les séances de PCE. L'indication de PCE dans la recherche d'un bénéfice pour ses patients s'oppose aux risques liés à la réalisation des procédures chez les patients à risques que représentent les enfants de petit poids (surtout les patients de moins de 15 kg) ou les patients présentant une GVH aigüe sévère. La réalisation des séances de PCE en pédiatrie se fait donc en collaboration étroite avec le service de réanimation pédiatrique quand la situation du patient l'exige. Des procédures sont actuellement en cours de rédaction entre ces 2 unités de soins et l'EFS décrivant les étapes du circuit patient: bilan clinique ou biologique et évaluation avant la procédure, transfert du patient vers le service de réanimation pédiatrique dont les équipes sont formées à la gestion des patients relevant de l'hématologie pédiatrique (la proximité des locaux hébergeant les 2 unités, dans le même bâtiment, à deux étages l'un de l'autre facilite le transfert de l'enfant), l'équipement en terme de voie d'abord veineuse (VVP ou VVC en fonction des situations) et la procédure de cytaphérèse sont réalisés dans le service de réanimation pédiatrique, puis en fonction de l'état clinique du patient la réinjection de la poche de suspension cellulaire se fait dans le service de réanimation ou dans le service d'hématologie. Cette organisation profite d'une plateforme technique favorable avec des locaux en surpression dans le service de réanimation permettant un accueil optimal des patients immunodéprimés, d' équipes médicales formées et de la possibilité de discuter en temps réel des décisions à prendre pour chaque patient entre les équipes d'hématologie et de réanimation pédiatrique ainsi que les médecins de l'EFS situé aussi à proximité du bâtiment pédiatrique du CHU de Grenoble. Ces procédures ont permis de réaliser des séances de PCE chez des enfants présentant des situations cliniques sévères ou des poids très petits (<10kg).

On note notamment un succès dans une stratégie multimodale associant PCE et immunosuppresseurs avec épargne cortisonée chez une patiente de moins de 10 kg en situation précaire sur le plan clinique, traitée pour LAL à haut risque en RC1 avec GVH aigue cutanée grade III et digestive grade IV, avec RC persistante. Dans ce cas précis, la réalisation de la PCE sans ce plateau technique et ces compétences multidisciplinaires en milieu de soins intensifs pédiatriques aurait été impossible.

L'ensemble des connexions établies entre les différents acteurs de la PCE et l'organisation de circuits bien définis pour les patients traités sont donc des vecteurs de bonne faisabilité de la PCE, d'homogénéisation du traitement et d'optimisation des protocoles de soins.

THESE SOUTENUE PAR : **Alexandre ARAUJO**

TITRE :

PHOTOPHERESE EN MILIEU PEDIATRIQUE ET AJA: INTERET D'UNE DEMARCHE DE THERAPIE CELLULAIRE POUR OPTIMISER LE PROTOCOLE DE SOINS

CONCLUSION

La Photochimiothérapie Extracorporelle est une technique d'immunothérapie autour de laquelle des intérêts thérapeutiques, techniques et technologiques se croisent, au delà de la question du bénéfice clinique que chaque patient peut retirer. C'est un traitement efficace de la maladie du greffon contre l'hôte mais dont le développement reste sujet à discussion et limité par la mauvaise connaissance de ses mécanismes d'action, par les contraintes techniques ou organisationnelles de mise en place des procédures en particulier dans les situations cliniques difficiles de la GVH aigüe ou dans la population pédiatrique et chez l'adolescent. Il existe deux techniques de PCE utilisées dans le monde, présentant chacune des avantages et des inconvénients, mais dont les différences principales sont la classification en technique de thérapie cellulaire et la possibilité de réaliser les prélèvements cellulaires par cytaphérèse chez les enfants de petits poids, avec la technique « ouverte ». La coexistence de deux appareillages et de procédures distincts n'apparaît pas compatible à terme avec les pratiques des unités de soins utilisant la PCE mais le risque de voir l'un ou l'autre des systèmes disparaître sans que soient précisés d'éventuels critères techniques modifiant l'efficacité de la PCE est un enjeu de recherche clinique peu considéré. Nous avons donc mené une étude rétrospective sur 20 patients âgés de 1 à 25 ans, traités en pédiatrie et en hématologie adulte (accréditation JACIE commune clinique adulte et pédiatrique, prélèvement et thérapie cellulaire le 27/07/2010) et analysé 125 séances de PCE selon la technique « ouverte » afin de déterminer si la quantité de cellules traitées avait un effet sur l'efficacité clinique du traitement de la maladie du greffon contre l'hôte. 13 patients ont été traités par PCE pour une GVH aigue et 7 pour une GVH chronique. Pour les patients traités pour une GVH aigüe, nous avons pu montrer que les suspensions cellulaires photoirradiées dans les situations de bonne réponse clinique avaient une richesse en cellules mononuclées (total des cellules de la suspension/poids du patient) plus importante que celles des patients en situation d'échec. Mais l'analyse statistique des données ne nous a pas permis de définir un seuil de richesse cellulaire permettant de déterminer avec une probabilité suffisante le risque de succès ou d'échec du traitement.

Pour les patients traités pour une GVH chronique, l'impact de la richesse cellulaire des prélèvements sur l'efficacité du traitement n'est pas retrouvé. Des réserves, en partie liées au caractère rétrospectif de l'étude, doivent pondérer ces résultats : le nombre peu élevé de patients inclus, l'hétérogénéité des situations cliniques et des approches thérapeutiques (traitements préalables, gestion des immunosuppresseurs, délais de mise en route de la PCE, nombre et rythme des séances). Ces résultats ne nous permettent pas d'établir de nouvelles hypothèses dans la compréhension des mécanismes d'action de la PCE ; pourtant ils devraient nous amener à nous poser des questions sur les enjeux de l'évolution technologique des appareillages de cytaphérèse utilisés. Cette évolution tend vers une diminution du volume sanguin traité, et en conséquence possible du nombre de cellules prélevées, pour favoriser une meilleure tolérance clinique du traitement, mais cela se fait en l'absence de données scientifiques sur un effet potentiel sur l'efficacité de la PCE. Il n'existe pas de preuves que les effets thérapeutiques n'en seront pas modifiés, et notre étude à défaut d'apporter une réponse précise à cette question permet de mettre en avant l'intérêt des démarches de thérapie cellulaire dans l'optimisation des protocoles de soins. Les inconvénients pratiques de la PCE, l'absence de données techniques, comme la notion d'un seuil de volume sanguin traité ou d'un nombre de cellules traitées efficace représentent des obstacles à la réalisation d'études contrôlées, qui permettraient si ce n'est de mieux comprendre les mécanismes d'action, au moins d'en maitriser les paramètres d'efficacité et d'améliorer les résultats de la PCE dans les indications actuelles puis d'ouvrir son champ d'application à d'autres indications.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le 10/10/2013

LE DOYEN

LE PRESIDENT DE LA THESE

C.H.U. GRENOBLE – Hôpital Couple Enfant
Clinique Universitaire de Pédiatrie
Pr D. PLANTAZ
RPPS : 10002988664

BIBLIOGRAPHIE

- Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, et al. *Graft versus host disease.* Lancet 2009; 373: 1550-1561.
- Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, et al. *National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft - versus - host disease: I. Diagnosis and staging working group report.* Biol Blood Marrow Transplant 2005; 11: 945-56.
- Billingham RE. *The biology of graft-versus-host reactions.* Harvey Lect 1966; 62:21-78.
- Ferrara JL, Reddy P. *Pathophysiology of graft-versus-host disease.* Semin Hematol. Jan 2006; 43(1):3-10.
- Sun Y, Tawara I, Toubai T, et al. *Pathophysiology of acute graft-versus-host disease: recent advances.* Transl Res. Oct 2007;150(4):197-214.
- Nevo S, Enger C, Swan V, et al. *Acute bleeding after allogeneic bone marrow transplantation: association with graft versus host disease and effect on survival.* Transplantation 1999; 67: 681–89.
- Glucksberg H, Storb R, Fefer A, et al. *Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HLA-matched sibling donors.* Transplantation 1974; 18(4):295-304.
- Chen X, Vodanovic-Jankovic S, Johnson B, et al. *Absence of regulatory T-cell control of TH1 and TH17 cells is responsible for the autoimmune-mediated pathology in chronic graft-versus-host disease.* Blood 2007 Nov 15; 110:3804-13.
- Zhang C, Todorov I, Zhang Z, et al. *Donor CD4+ T and B cells in transplants induce chronic graft-versus-host disease with autoimmune manifestations.* Blood 2006; 107(7):2993-3001.
- Daikeler T, Tyndall A. *Autoimmunity following haematopoietic stem-cell transplantation.* Best Pract Res Clin Haematol 2007 Jun; 20(2):349-60.
- Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL, et al. *Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients.* Am J Med 1980 Aug; 69:204-17.
- Ferrara JL, Yanik G. *Acute graft versus host disease: pathophysiology, risk factors, and prevention strategies.* Clin Adv Hematol Oncol 2005; 3:415-9.

- Shlomchik WD. *Graft-versus-host disease.* Nat Rev Immunol 2007; 7(5):340-52
- Bunin N, Carston M, Wall D, et al. *Unrelated marrow transplantation for children with acute lymphoblastic leukemia in second remission.* Blood 2002; 99:3151-3157.
- Zecca M, Prete A, Rondelli R, et al. *Chronic graft-versus-host disease in children: incidence, risk factors, and impact on outcome.* Blood 2002; 100:1192-1200.
- Ferry C, Gemayel G, Rocha V, et al. *Long-term outcomes after allogeneic stem cell transplantation for children with haematological malignancies.* Bone Marrow Transplant 2007; 40:219– 24.
- Merlin E, Kanold J, Hannani D, et al. *Argumentaire pour une utilisation plus large de la photochimiothérapie extracorporelle chez l'enfant.* Arch Pediatr 2010; 17:1327-37.
- Cutler C, Giri S, Jeyapalan S et al. *Acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic peripheral-blood stem-cell and bone marrow transplantation: a meta-analysis.* J Clin Oncol 2001; 19:3685-91.
- Laughlin MJ, Eapen M, Rubinstein P, et al. *Outcomes after transplantation of cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with leukemia.* N Engl J Med 2004; 351:2265-75.
- Lee SJ, Vogelsang G, Flowers ME. *Chronic graft-versus-host disease.* Biol. Blood Marrow Transplant 2003; 9:215–33.
- Cahn JY, Klein JP, Lee SJ et al. *Prospective evaluation of 2 acute graft-versus-host (GVHD) grading systems: a joint Société Française de Greffe de Moelle et Thérapie Cellulaire (SFGM-TC), Dana Farber Cancer Institute (DFCI), and International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR) prospective study*. Blood 2005, 106: 1495-1500.
- Lee SJ, Klein JP, Barrett AJ et al. *Severity of chronic graft-versus-host disease: association with treatment-related mortality and relapse.* Blood 2002; 100:406–14.
- Carpenter PA, Sanders JE. *Steroid-refractory graft-vs.-host disease: past, present and future*. Pediatr Transplant. 2003; 7 Suppl 3:19 31.
- Blanc K, Frassoni F, Ball L, et al. *Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study.* Lancet 2008; 371: 1579–86.
- Dignan FL, Amrolia P, Clark A, et al. Diagnosis and management of chronic graft-versus-hoste disease. Br J Haematol 2012; 158(1):46-61.

- Peters C, Minkov M, Gadner H, et al. *Statement of current majority practices in graft-versushost disease prophylaxis and treatment in children.* Bone Marrow Transplant 2000; 26:405–11.
- Edelson R, Berger C, Gasparro F, et al. *Treatment of cutaneous T-cell lymphoma by extracorporeal photochemotherapy. Preliminary results.* N Engl J Med 1987; 316:297–303.
- Costanzo-Nordin MR, Hubbell EA, O_Sullivan EJ, et al. *Successful treatment of heart transplant rejection with photopheresis.* Transplantation 1992; 53:808–15.
- Andreu G, Achkar A, Couetil JP, et al. *Extracorporeal photochemotherapy treatment for acute lung rejection episode.* J Art Lung Transpl 1995; 14:793–6.
- Horina JH, Mulleger RR, Horn S, et al. *Photopheresis for renal allograft rejection.* Lancet 1995; 346:61.
- Heshmati F, Achkar A, Couetil JP, et al. *Extracorporeal photochemotherapy (ECP) for the treatment of acute lung rejection (ALR) and bronchiolitis obliterans syndrome (BOS) after heart–lung (HLTX) or lung transplantation (LTX)*. Congres de l'American Association of Blood Banks, Denver, October 1997.
- Heshmati F, Tavakoli R, Michel A, et al. *Extracorporeal photochemotherapy: a treatment for organ graft rejection.* Ther Apher 1997; 1:121–5.
- Rossetti F, Dall'amico R, Crovetti G et al. *Extracorporeal photochemotherapy for the treatment of graft-versus-host disease.* Bone Marrow Transpl 1996; 18(Suppl 2):175–81.
- Barr ML, Meiser BM, Eisen HJ, et al. *Photopheresis for the prevention of rejection in cardiac transplantation.* N Engl J Med 1998; 339:1744–51.
- Rostami AM, Sater RA, Bird SJ, et al. *A double-blind, placebocontrolled trial of extracorporeal photopheresis in chronic progressive multiple sclerosis.* Mult Scler 1999; 5:198–203.
- Knobler R, French L, Kim Y, et al. *A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of photopheresis in systemic sclerosis.* J Am Acad Dermatol 2006; 54:793–9.
- Ludvigsson J, Samuelsson U, Ernerudh J, et al. *Photopheresis at onset of type 1 diabetes: a randomised, double blind, placebocontrolled trial.* Arch Dis Child 2001; 85:149–54.
- Schooneman F. *Extracorporeal photopheresis technical aspects*. Transfus Apher Sci 2003; 28:51–61.

- Parrish JA, Fitzpatrick TB, Tanenbaum L, et al. *Photochemotherapy of psoriasis with oral methoxsalen and longwave ultraviolet light.* N Engl J Med 1974; 291(23):1207-11.
- Goussetis E, Varela I, Tsirigotis P. *Update on the mechanism of action and on clinical efficacy of extracorporeal photopheresis in the treatment of acute and chronic graft versus host disease in children.* Transfus Apher Sci 2012; 46: 203–9.
- Haute Autorité de Santé. *Photochimiothérapie extracorporelle. Rapport d'évaluation.* Mars 2010.
- Andreu G, Leon A, Heshmati F, et al. *Extracorporeal photochemotherapy: evaluation of two techniques and use in connective tissue disorders.* Transfus Sci 1994; 15: 443–54.
- Plumas J, Manches O, Chaperot L. *Mechanisms of action of extracorporeal photochemotherapy in the control of GVHD: Involvement of dendritic cells.* Leukemia 2003; 17:2061–2.
- Hannani D, Gabert F, Chaperot L, et al. *La photochimiothérapie extracorporelle ou l'immunothérapie par cellules modifiées par photochimie.* Rev Med Interne 2010; 31:321-4.
- Plumas J, Drillat P, Jacob MC,et al. *Extracorporeal photochemotherapy for treatment of clonal T cell proliferations*. Bull Cancer 2003; 90:763–70.
- Heshmati F. *Mechanisms of action of extracorporeal photochemotherapy.* Transfus Apher Sci 2003; 29: 61- 70.
- Hart JW, Shiue LH, Shpall EJ, et al. *Extracorporeal photopheresis in the treatment of graft-versus-host-disease: evidence and opinion.* Ther Adv Hematol 2013; 4:320-34.
- Suchin KR, Cassin M, Washko R, et al. *Extracorporeal photochemotherapy does not suppress T- or B-cell responses to novel or recall antigens.* J Am Acad Dermatol 1999; 41:980-6.
- Marshall SR. *Technology insight: ECP for the treatment of GvHD: can we offer selective immune control without generalized immunosuppression?* Nat Clin Pract Oncol 2006; 3:302-14.
- Dall'Amico R, Messina C. *Extracorporeal photochemotherapy for the treatment of graft-versus-host disease.* Ther Apher 2002; 6:296–304.
- Couriel D, Hosing C, Saliba R, et al. *Extracorporeal photopheresis for acute and chronic graft-versushost disease: Does it work?* Biol Blood Marrow Transplant 2006; 12: 37–40.

- Flowers ME, Apperley JF, Van Besien K, et al. *A multicenter prospective phase 2 randomized study of extracorporeal photopheresis for treatment of chronic graft-versus-host disease.* Blood 2008; 112:2667–74.
- Perfetti P, Carlier P, Strada P, et al. *Extracorporeal photopheresis for the treatment of steroid refractory acute GVHD.* Bone Marrow Transplant 2008; 42(9):609-17.
- Salvaneschi L, Perotti C, Zecca M, et al. *Extracorporeal photochemotherapy for treatment of acute and chronic GVHD in childhood.* Transfusion 2001; 41:1299–305.
- Messina C, Locatelli F, Lanino E, et al. *Extracorporeal photochemotherapy for paediatric patients with graft versus host disease after haematopoietic stem cell transplantation.* Br J Haematol 2003; 122:118–27.
- Kanold J, Merlin E, Halle P, et al. *Photopheresis in pediatric graft versus host disease after allogeneic marrow transplantation: clinical practice guidelines based on field experience and review of the literature.* Transfusion 2007; 47:2276–89.
- Berger M, Pessolano R, Albiani R, et al. *Extracorporeal photopheresis for steroid resistant graft versus host disease in pediatric patients.* J Pediatr Hematol Oncol 2007; 29:678–87.
- Duzovali O, Chan KW. *Intensive extracorporeal photochemotherapy in pediatric patients with chronic graft-versus-host disease (cGVHD).* Pediatr Blood Cancer 2007; 48:218–21.
- Calore E, Calo A, Tridello G, et al. *Extracorporeal photochemotherapy may improve outcome in children with acute GVHD.* Bone Marrow Transplant 2008; 42:421–5.
- Gonzalez-Vicent M, Ramirez M, Sevilla J, et al. *Analysisof clinical outcome and survival in pediatric patients undergoing extracorporeal photopheresis for the treatment of steroid-refractory GVHD.* J Pediatr Hematol Oncol 2010; 32:589–93.
- Perotti C, Del Fante C, Tinelli C, et al. *Extracorporeal photochemotherapy in graft-versus-host disease: a longitudinal study on factors influencing the response and survival in pediatric patients.* Transfusion 2010; 50:1359–69.
- Merlin E, Paillard C, Rochette E, David A, Isfan F, Doré E, et al. *Extracorporeal photochemotherapy as second- or first-line therapy of acute GVHD?* Bone Marrow Transplant 2010; 45:963–5.
- Garban F, Drillat P, Makowski C, et al. *Extracorporeal chemophototherapy for the treatment of graft-versus-host disease: hematologic consequences of short-term, intensive courses*. Haematologica. 2005;90:1096–1101

ANNEXES

Annexe 1 :

Classification de la GVH selon le NIH working group.

Classification de la GVH	Survenue des symptômes	Présence de signes de GVH aigüe	Présence de signes de GVH chronique
GvH aigüe			
GvH aigüe classique	≤ 100 jours	Oui	Non
GvH aigüe persistante, récurrente ou tardive	≥ 100 jours	Oui	Non
GvH chronique			
GvH chronique classique	Sans limite	Non	Oui
Syndrome de superposition	Sans limite	Oui	Oui

Annexe 2 :

Classification de Glucksberg.

Stades de sévérité des atteintes selon les organes.

STADES	PEAU : éruption maculo- papuleuse	FOIE : taux de bili µmol/l	INTESTIN
1	<25% SC	34-50	Diarrhée > 500 ml/j (ou 10-15 ml/kg/j chez les <12 ans) *ou* nausées, anorexie ou vomissements
2	25-50% SC	51-102	Diarrhée > 1000 ml/j (ou 16-20 ml/kg/j chez les <12 ans)
3	>50% SC	103-255	Diarrhée > 1500 ml/j (ou 21-25 ml/kg/j chez les <12 ans)
4	Erythrodermie généralisée, Nécrolyse épidermique = Lyell	>255	Diarrhée > 1500 ml/j (ou > 26 ml/kg/j chez les <12 ans) *et* douleurs abdominales +/- iléus +/- sang dans les selles

Grades de sévérité de la GVH aigüe.

GRADES	PEAU	FOIE	INTESTIN	ETAT GENERAL
I	1-2	0	0	normal
II	1-3 (=3 ou)	1	1	moyen
III	1-3 (=3 ou 2 et)	2-3	2-3	altéré
IV	1-4 (=4 ou « 2 ou 3 » et)	4	4	impotence

Annexe 3 :

Classification de la GVH chronique selon le groupe de Seattle.

1 – **GVH limitée**

- Anomalies de la cavité buccale avec biopsie positive, sans autre signe de GVH
- Ou anomalies modérées du bilan hépatique avec biopsie cutanée positive, sans autre signe de GVH
- Ou moins de 6 plaques de lésions papulo-squameuse, ou rash cutané limité, ou dépigmentation cutanée limitée touchant moins de 20% de la surface cutanée, avec éventuellement biopsie cutanée positive, sans autre signe de GVH.
- Ou syndrome sec oculaire (Schirmer ≤ 5 mm), avec biopsie cutanée positive, sans autre signe de GVH
- Ou lésions vulvaires ou vaginales, avec biopsie cutanée positive, sans autre signe de GVH

2 – **GVH extensive**

- Lésions de GVH d'au moins 2 organes, avec biopsies positives (si réalisées)
- Perte de poids d'au moins 15%, sans autre explication ni biopsie contributive
- Lésions cutanées étendues (plus de 20% de la surface cutanée), avec éventuellement biopsie cutanée positive
- Sclérose cutanée
- Onycholyse ou onychodystrophie avec biopsie de n'importe quel organe positive
- Fasciite
- Contractures, rétractions tendineuses dues à la GVH
- Bronchiolite oblitérante
- Anomalies du bilan hépatique et biopsie hépatique positive
- Biopsies du tractus digestif positives
- Index de Karnofsky < 60% et signes de GVH

Annexe 4 :

Classification de la GVH chronique selon le NIH working group.

Nombre d'organes	GVHc légère	GVHc modérée	GVHc sévère
1 organe ou site	Score 1	Score 2	Score 3
2 organes ou sites	Score 1	Score 2	Score 3
3 organes ou plus		Score 1	Score 3
Atteinte pulmonaire		Score 1	Score 2

Score 0 : asymptomatique, Score 1 : symptômes légers, Score 2 : symptômes modérés, Score 3 : symptômes sévères.

Gravité de la GVH chronique	Atteintes et score clinique
Forme légère	1 ou 2 organes atteints, symptômes légers (score 1), à l'exception de l'atteinte pulmonaire.
Forme modérée	3 organes atteints avec des symptômes légers (score 1) ou 1 à 2 organes atteints avec des symptômes modérés (score 2) ou atteinte pulmonaire légère (score 1).
Forme sévère	Symptômes sévères (score 3) quelque soit le nombre d'organe atteints ou atteinte pulmonaire modérée voire sévère (score 2 ou 3).

Annexe 5 :

Manifestations cliniques de la GVH chronique.

Organe	Signes, symptômes et tests biologiques	Tests diagnostiques
Peau	Rash papulaire (lichénoïde) érythémateux ou violacé potentiellement squameux ou prurigineux Hyperpigmentation, hypopigmentation, poïkilodermie Épaississement, perte d'élasticité, fragilité, fixité cutanée(sclérodermiforme)	Biopsie cutanée
Cheveux et ongles	Cheveux fins ou cassants, grisonnement précoce, alopécie Ongles striés ou fragiles	
Bouche	Érythème, stries ou plaques blanchâtres (lichénoïdes) Ulcérations, fausses membranes, mucocèles	Biopsie muqueuse ou labiale
Yeux	Diminution de la production lacrymale (augmentation possible à la phase précoce) Sécheresse oculaire, brûlure, sensation de corps étranger, photophobie Conjonctivite, ulcérations cornéennes	Test de Schirmer pour production lacrymale
Foie	Augmentation de la bilirubine, des phosphatases alcalines, des GGT, des ASAT et ALAT	Biopsie hépatique si absence d'autre site atteint
Appareil digestif	Dysphagie, épigastralgies, douleurs rétrosternales Perte de poids, perte d'appétit, nausées, vomissements, diarrhée, douleurs abdominales	Transit œso-gastro-duodénal, endoscopie haute et basse Tests de malabsorption, recherche d'une insuffisance pancréatique
Poumons	Toux, wheezing, dyspnée	Explorations fonctionnelles respiratoires incluant spirométrie, DLCO, volumes pulmonaires Scanner thoracique avec coupes inspiratoires et expiratoires
Appareil locomoteur	Arthralgies, arthrites, myalgies, faiblesse musculaire, contractures	CK, aldolase EMG ENG Biopsie musculaire
	Épanchement pleural ou péricardique, ascite	Analyse de l'épanchement
Vulve/vagin	Érythème, stries ou plaques blanchâtres (lichénoïdes) Sécheresse, irritation Dyspareunies	Examen gynécologique : biopsie

Cœur	Bradycardie Douleurs thoraciques	ECG Holter CK, LDH, troponine
Rein	Protéinurie, œdèmes	Protéinurie des 24 heures Biopsie rénale
Système nerveux	Neuropathie sensitive ou motrice	EMG
Sang	Purpura thrombocytopénique immunologique, anémie hémolytique auto-immune, hyperéosinophilie	Test de Coombs NFS
Système immunitaire	Infections à germes encapsulés Infections pulmonaires et sinusites chroniques Pneumocystose pulmonaire Infections tardives à cytomégalovirus ou à herpès virus Absence de réponse vaccinale	

Annexe 6 :

Tableau comparatif des techniques de PCE.

	AVANTAGES	INCONVENIENTS
Système fermé **(UVAR™ XTS™)**	• Simplicité de mise en œuvre et de réalisation • Système « tout en un » pour le prélèvement du sang, l'extraction, le traitement et la réinjection des CMN. • Utilisation d'un 8-MOP de qualité pharmaceutique	• Volume extracorporel important (risque hémodynamique) • Volume traité plus faible que pour le système ouvert • Contamination en globules rouges plus importante (Ht≥4 %) • Aucun contrôle après l'irradiation
Système dissocié **(multisupport)**	• Contamination minimale en globules rouges (Ht<2 %) • Volume de sang traité plus important que dans le système fermé • Extraction d'une quantité plus importante de CMN • Contrôle qualité avant et après l'irradiation possible • Produit final standardisé en volume et en concentration de 8-MOP • Technique adaptée aux petits volumes et à la pédiatrie • Utilisation d'appareils non dédiés • Coût réduit par rapport au système fermé	• Risque de contamination bactérienne des poches (en absence de connexion stérile) • Possibilité d'erreur d'attribution • Autorisation de réalisation de thérapie cellulaire nécessaire (8-MOP à statut PTA)

Source : Photochimiothérapie extracorporelle. Rapport d'évaluation. Haute Autorité de Santé. Mars 2010.

Annexe 7 :

Procédure JACIE hématologie clinique et oncologie pédiatrique du CHU de Grenoble: la PCE dans le traitement de la GVH.

CHU	**Hématologie clinique / Oncologie pédiatrique**	JACIE.CPG-PRO-015
	PHOTOCHIMOTHERAPIE EXTRACORPORELLE DANS TRAITEMENT GVH	
Type : PRO Date de diffusion :29/01/2013 Version : 2 Nombre de pages : 3		Rédigé par : Vérifié par : Approuvé par :

I. OBJET

Définir la place de la PhotoChimothérapie Extracorporelle PCE dans le traitement de la maladie du greffon après greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques.

II. CHAMP D'APPLICATION

Secteurs : secteurs d'hématologie adulte et d'oncologie pédiatrique, hospitalisation et hospitalisation de jour.

Domaine : Complications immunologiques de la greffe allogénique.

III. DEFINITIONS

- Le traitement a lieu en 3 étapes
  - prélèvement par aphérèse
  - traitement par psoralène et irradiation UV
  - réinjection des cellules traitées

- 2 techniques à disposition
  - Double plate-forme : cellules traitées à l'UMTCT : abord vasculaire biponcture
  - Simple plate-forme : prélèvement et traitement des cellules effectués sur un seul dispositif : abord vasculaire uni ponction

IV. CORPS DU DOCUMENT

Sauf cas particulier, la PCE est proposée après échec ou insuffisance d'au moins un traitement immunosuppresseur de première ligne.
La PCE est proposée seule ou en association avec un autre traitement immunosuppresseur de seconde ligne.
L'association de la PCE aux traitements immunosuppresseurs n'augmente pas le risque infectieux.

1. GVHD évolutive

La PCE est proposée
- devant une atteinte aiguë cutanée et/ou digestive.
- devant une atteinte chronique cutanée et/ou digestive et/ou pulmonaire

La PCE sera discutée au plus tôt en deuxième ligne en cas :
- de GVHD corticorésistante
- de GVHD corticodépendante

2. GVHD contrôlée

- Quelle que soit la nature de la cible (cutanée, digestive ou pulmonaire) la PCE peut être proposée en vue de réduire l'immunosuppression médicamenteuse.

3. Schéma thérapeutique

- Evaluation objective préalable des cibles si la maladie est évolutive
- Prescription d'une première série de Photophérèses en précisant l'indication
- Modalités du traitement d'attaque :
  - En règle au moins 6 séances, si possible en 3 semaines
  - Evaluation de la réponse au moins 2 semaines après la fin de la série (sauf en cas d'évolutivité manifeste)

- Un traitement d'entretien par PCE pourra être proposé aux patients en situation de réponse à hauteur de 4 procédures sur un mois.

4. Modalités pratiques

- **Consultation pré-cytaphérèse**

Lorsque l'état du patient le permet, une consultation à l'EFS précède la mise en œuvre du traitement. Dans le cas contraire elle est réalisée dans l'unité d'hospitalisation.
Elle a pour but :
- d'expliquer au patient la technique, les effets secondaires envisageables, la nécessité de compléments sérologiques éventuels
- de recueillir le consentement écrit du patient
- de présenter le matériel utilisé
- de permettre un premier contact avec l'équipe soignante
- d'effectuer une vérification des voies d'abord
- de demander les examens suivants :
  - Sérologies : HIV1 et 2, HTLV, Hépatite B, Hépatite C et syphilis
  - Bilan de coagulation : TP, TCA
  - ECG
- de déterminer le choix de la technique

- **La technique double plate-forme (Vilbert-Lourmat)** sera proposée dans les situations suivantes :
    - Poids < 50 kg
    - Anémie et/ou thrombopénie conduisant à une dépendance transfusionnelle
    - Nécessité de réaliser la procédure dans le service d'hospitalisation

- **La technique Simple plate-forme (Therakos ®)** est utilisée dans les autres cas.

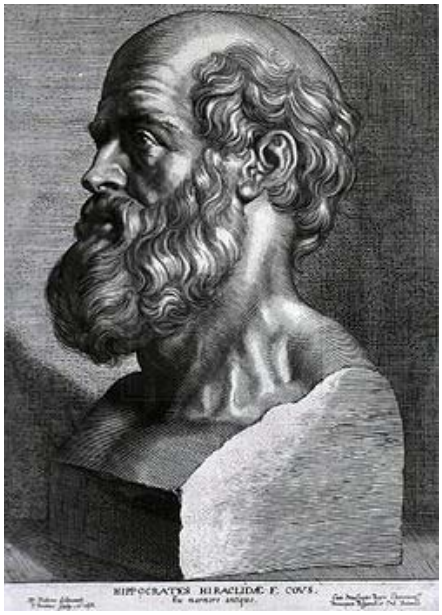
Diffusion	Secteurs du service d'hématologie clinique et d'oncologie pédiatrique	Date : 29/01/2013
Classement	Dans VDoc : Dossier « JACIE » / sous-dossier **CPG**	

Rédaction		Date :
Vérification		Date :
Vérification qualité	F.Imburchia, ingénieur qualité	Date : 25/06/2009
Approbation		Date :

Historique

JACIE.CPG-PRO-015	Version : 2	29/01/2013

SERMENT D'HIPPOCRATE



En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'HIPPOCRATE,
Je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.
Je donnerais mes soins gratuitement à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au dessus de mon travail. Je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.
Admis dans l'intimité des maisons, mes yeux n'y verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.
Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.
Je garderai le respect absolu de la vie humaine.
Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.
Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.
Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.
Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

LISTE DES PU-PH ET DES MCU-PH

PU-PH 2012/2013

Nom - Prénom	Discipline
ALBALADEJO Pierre	Anesthésiologie réanimation
ARVIEUX-BARTHELEMY Catherine	chirurgie générale
BACONNIER Pierre	Biostatiques, informatique médicale et technologies de communication
BAGUET Jean-Philippe	Cardiologie
BALOSSO Jacques	Radiothérapie
BARRET Luc	Médecine légale et droit de la santé
BAUDAIN Philippe	Radiologie et imagerie médicale
BEANI Jean-Claude	Dermato-vénéréologie
BENHAMOU Pierre Yves	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
BERGER François	Biologie cellulaire
BLIN Dominique	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
BONAZ Bruno	Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie
BOSSON Jean-Luc	Biostatiques, informatique médicale et technologies de communication
BOUGEROL Thierry	Psychiatrie d'adultes
BOUILLET Laurence	Médecine interne
BRAMBILLA CHRISTIAN	Pneumologie
BRAMBILLA Elisabeth	Anatomie et cytologie pathologiques

BRICAULT Ivan	**Radiologie et imagerie médicale**
BRICHON Pierre-Yves	**Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire**
CAHN Jean-Yves	**Hématologie**
CARPENTIER Françoise	**Thérapeutique, médecine d'urgence**
CARPENTIER Patrick	**Chirurgie vasculaire, médecine vasculaire**
CESBRON Jean-Yves	**Immunologie**
CHABARDES Stephan	**Neurochirurgie**
CHABRE Olivier	**Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques**
CHAFFANJON Philippe	**Anatomie**
CHAVANON Olivier	**Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire**
CHIQUET Christophe	**Ophtalmologie**
CHIROSSEL Jean-Paul	**Anatomie**
CINQUIN Philippe	**Biostatiques, informatique médicale et technologies de communication**
COHEN Olivier	**Biostatiques, informatique médicale et technologies de communication**
COUTURIER Pascal	**Gériatrie et biologie du vieillissement**
CRACOWSKI Jean-Luc	**Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique**
DE GAUDEMARIS Régis	**Médecine et santé au travail**
DEBILLON Thierry	**Pédiatrie**
DEMATTEIS Maurice	**Addictologie**
DEMONGEOT Jacques	**Biostatiques, informatique médicale et technologies de communication**
DESCOTES Jean-Luc	**Urologie**
ESTEVE François	**Biophysique et médecine nucléaire**

FAGRET Daniel	**Biophysique et médecine nucléaire**
FAUCHERON Jean-Luc	**chirurgie générale**
FERRETTI Gilbert	**Radiologie et imagerie médicale**
FEUERSTEIN Claude	**Physiologie**
FONTAINE Eric	**Nutrition**
FRANCOIS Patrice	**Epidémiologie, économie de la santé et prévention**
GARBAN Frédéric	**Hématologie, transfusion**
GAUDIN Philippe	**Rhumatologie**
GAVAZZI Gaetan	**Gériatrie et biologie du vieillissement**
GAY Emmanuel	**Neurochirurgie**
GRIFFET Jacques	**Chirurgie infantile**
HALIMI Serge	**Nutrition**
HENNEBICQ Sylviane	**Génétique et procréation**
HOFFMANN Pascale	**Gynécologie obstétrique**
HOMMEL Marc	**Neurologie**
JOUK Pierre-Simon	**Génétique**
JUVIN Robert	**Rhumatologie**
KAHANE Philippe	**Physiologie**
KRACK Paul	**Neurologie**
KRAINIK Alexandre	**Radiologie et imagerie médicale**
LABARERE José	**Département de veille sanitaire**

LANTUEJOUL Sylvie	**Anatomie et cytologie pathologiques**
LE BAS Jean-François	**Biophysique et médecine nucléaire**
LEBEAU Jacques	**Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie**
LECCIA Marie-Thérèse	**Dermato-vénéréologie**
LEROUX Dominique	**Génétique**
LEROY Vincent	**Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie**
LETOUBLON Christian	**chirurgie générale**
LEVY Patrick	**Physiologie**
LUNARDI Joël	**Biochimie et biologie moléculaire**
MACHECOURT Jacques	**Cardiologie**
MAGNE Jean-Luc	**Chirurgie vasculaire**
MAITRE Anne	**Médecine et santé au travail**
MAURIN Max	**Bactériologie - virologie**
MERLOZ Philippe	**Chirurgie orthopédique et traumatologie**
MORAND Patrice	**Bactériologie - virologie**
MORO Elena	**Neurologie**
MORO-SIBILOT Denis	**Pneumologie**
MOUSSEAU Mireille	**Cancérologie**
MOUTET François	**Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique, brûlogie**
PALOMBI Olivier	**Anatomie**

PASSAGIA Jean-Guy	**Anatomie**
PARK Sophie	**Hématologie**
PAYEN DE LA GARANDERIE Jean-François	**Anesthésiologie réanimation**
PELLOUX Hervé	**Parasitologie et mycologie**
PEPIN Jean-Louis	**Physiologie**
PERENNOU Dominique	**Médecine physique et de réadaptation**
PERNOD Gilles	**Médecine vasculaire**
PIOLAT Christian	**Chirurgie infantile**
PISON Christophe	**Pneumologie**
PLANTAZ Dominique	**Pédiatrie**
POLACK Benoît	**Hématologie**
PONS Jean-Claude	**Gynécologie obstétrique**
RAMBEAUD Jacques	**Urologie**
REYT Emile	**Oto-rhino-laryngologie**
RIGHINI Christian	**Oto-rhino-laryngologie**
ROMANET J. Paul	**Ophtalmologie**
SARAGAGLIA Dominique	**Chirurgie orthopédique et traumatologie**
SCHMERBER Sébastien	**Oto-rhino-laryngologie**
SCHWEBEL Carole	**Réanimation médicale**
SERGENT Fabrice	**Gynécologie obstétrique**

SESSA Carmine	**Chirurgie vasculaire**
STAHL Jean-Paul	**Maladies infectieuses, maladies tropicales**
STANKE Françoise	**Pharmacologie fondamentale**
TIMSIT Jean-François	**Réanimation**
TONETTI Jérôme	**Chirurgie orthopédique et traumatologie**
TOUSSAINT Bertrand	**Biochimie et biologie moléculaire**
VANZETTO Gérald	**Cardiologie**
VUILLEZ Jean-Philippe	**Biophysique et médecine nucléaire**
WEIL Georges	**Epidémiologie, économie de la santé et prévention**
ZAOUI Philippe	**Néphrologie**
ZARSKI Jean-Pierre	**Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie**

MCU-PH 2012/2013

Nom - Prénom	Discipline
APTEL Florent	Ophtalmologie
BOISSET Sandrine	Agents infectieux
BONNETERRE Vincent	Médecine et santé au travail
BOTTARI Serge	Biologie cellulaire
BOUTONNAT Jean	Cytologie et histologie
BOUZAT Pierre	Réanimation
BRENIER-PINCHART M.Pierre	Parasitologie et mycologie
BRIOT Raphaël	Thérapeutique, médecine d'urgence
CALLANAN-WILSON Mary	Hématologie, transfusion
DERANSART Colin	Physiologie
DETANTE Olivier	Neurologie
DIETERICH Klaus	Génétique et procréation
DUMESTRE-PERARD Chantal	Immunologie
EYSSERIC Hélène	Médecine légale et droit de la santé
FAURE Julien	Biochimie et biologie moléculaire
GILLOIS Pierre	Biostatiques, informatique médicale et technologies de communication
GRAND Sylvie	Radiologie et imagerie médicale
GUZUN Rita	Endocrinologie, diabétologie, nutrition, éducation thérapeutique
LAPORTE François	Biochimie et biologie moléculaire
LARDY Bernard	Biochimie et biologie moléculaire
LARRAT Sylvie	Bactériologie, virologie
LAUNOIS-ROLLINAT Sandrine	Physiologie
MALLARET Marie-Reine	Epidémiologie, économie de la santé et prévention

MAUBON Danièle	**Parasitologie et mycologie**
MC LEER (FLORIN) Anne	**Cytologie et histologie**
MOREAU-GAUDRY Alexandre	**Biostatiques, informatique médicale et technologies de communication**
MOUCHET Patrick	**Physiologie**
PACLET Marie-Hélène	**Biochimie et biologie moléculaire**
PAYSANT François	**Médecine légale et droit de la santé**
PELLETIER Laurent	**Biologie cellulaire**
RAY Pierre	**Génétique**
RIALLE Vincent	**Biostatiques, informatique médicale et technologies de communication**
ROUX-BUISSON Nathalie	**Biochimie, toxicologie et pharmacologie**
SATRE Véronique	**Génétique**
STASIA Marie-Josée	**Biochimie et biologie moléculaire**
TAMISIER Renaud	**Physiologie**

THESE SOUTENUE PAR : **Alexandre ARAUJO**

TITRE :

PHOTOPHERESE EN MILIEU PEDIATRIQUE ET AJA: INTERET D'UNE DEMARCHE DE THERAPIE CELLULAIRE POUR OPTIMISER LE PROTOCOLE DE SOINS

CONCLUSION

La Photochimiothérapie Extracorporelle est une technique d'immunothérapie autour de laquelle des intérêts thérapeutiques, techniques et technologiques se croisent, au delà de la question du bénéfice clinique que chaque patient peut retirer. C'est un traitement efficace de la maladie du greffon contre l'hôte mais dont le développement reste sujet à discussion et limité par la mauvaise connaissance de ses mécanismes d'action, par les contraintes techniques ou organisationnelles de mise en place des procédures en particulier dans les situations cliniques difficiles de la GVH aigüe ou dans la population pédiatrique et chez l'adolescent. Il existe deux techniques de PCE utilisées dans le monde, présentant chacune des avantages et des inconvénients, mais dont les différences principales sont la classification en technique de thérapie cellulaire et la possibilité de réaliser les prélèvements cellulaires par cytaphérèse chez les enfants de petits poids, avec la technique « ouverte ». La coexistence de deux appareillages et de procédures distincts n'apparaît pas compatible à terme avec les pratiques des unités de soins utilisant la PCE mais le risque de voir l'un ou l'autre des systèmes disparaître sans que soient précisés d'éventuels critères techniques modifiant l'efficacité de la PCE est un enjeu de recherche clinique peu considéré. Nous avons donc mené une étude rétrospective sur 20 patients âgés de 1 à 25 ans, traités en pédiatrie et en hématologie adulte (accréditation JACIE commune clinique adulte et pédiatrique, prélèvement et thérapie cellulaire le 27/07/2010) et analysé 125 séances de PCE selon la technique « ouverte » afin de déterminer si la quantité de cellules traitées avait un effet sur l'efficacité clinique du traitement de la maladie du greffon contre l'hôte. 13 patients ont été traités par PCE pour une GVH aigue et 7 pour une GVH chronique. Pour les patients traités pour une GVH aigüe, nous avons pu montrer que les suspensions cellulaires photoirradiées dans les situations de bonne réponse clinique avaient une richesse en cellules mononuclées (total des cellules de la suspension/poids du patient) plus importante que celles des patients en situation d'échec. Mais l'analyse statistique des données ne nous a pas permis de définir un seuil de richesse cellulaire permettant de déterminer avec une probabilité suffisante le risque de succès ou d'échec du traitement.

Pour les patients traités pour une GVH chronique, l'impact de la richesse cellulaire des prélèvements sur l'efficacité du traitement n'est pas retrouvé. Des réserves, en partie liées au caractère rétrospectif de l'étude, doivent pondérer ces résultats : le nombre peu élevé de patients inclus, l'hétérogénéité des situations cliniques et des approches thérapeutiques (traitements préalables, gestion des immunosuppresseurs, délais de mise en route de la PCE, nombre et rythme des séances). Ces résultats ne nous permettent pas d'établir de nouvelles hypothèses dans la compréhension des mécanismes d'action de la PCE ; pourtant ils devraient nous amener à nous poser des questions sur les enjeux de l'évolution technologique des appareillages de cytaphérèse utilisés. Cette évolution tend vers une diminution du volume sanguin traité, et en conséquence possible du nombre de cellules prélevées, pour favoriser une meilleure tolérance clinique du traitement, mais cela se fait en l'absence de données scientifiques sur un effet potentiel sur l'efficacité de la PCE. Il n'existe pas de preuves que les effets thérapeutiques n'en seront pas modifiés, et notre étude à défaut d'apporter une réponse précise à cette question permet de mettre en avant l'intérêt des démarches de thérapie cellulaire dans l'optimisation des protocoles de soins. Les inconvénients pratiques de la PCE, l'absence de données techniques, comme la notion d'un seuil de volume sanguin traité ou d'un nombre de cellules traitées efficace représentent des obstacles à la réalisation d'études contrôlées, qui permettraient si ce n'est de mieux comprendre les mécanismes d'action, au moins d'en maitriser les paramètres d'efficacité et d'améliorer les résultats de la PCE dans les indications actuelles puis d'ouvrir son champ d'application à d'autres indications.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le 10/10/2013

LE DOYEN

LE PRESIDENT DE LA THESE

C.H.U. GRENOBLE – Hôpital Couple Enfant
Clinique Universitaire de Pédiatrie
Pr D. PLANTAZ
RPPS : 10002988664