



1945029829

**DEMANDE D'AUTORISATION
EN VUE D'UNE PUBLICATION OU D'UNE COMMUNICATION**

à faire parvenir pour accord, par la voie hiérarchique, au Directeur de l'IPSN

**DEPARTEMENT DE PROTECTION DE LA SANTE
DE L'HOMME ET DE DOSIMETRIE**

Date : le 15 Novembre 1994
Réf. : DPHD/94-512

Titre original du document : Approches thérapeutiques du syndrome hématopoïétique après irradiation globale accidentelle grave. Intérêt de l'expansion ex vivo des cellules hématopoïétiques.

Titre traduit :

MHL 526 / N. FR 9503217

Auteurs	Affiliation (1)	DEPT/SERV/SECT.	VISA (d'un des auteurs)	Date
THIERRY Dominique	IPSN	DPHD/SARAM 960992	<i>[Signature]</i>	15/11/94

Nature du document (2)

Rapport Thèse Périodique Cours Congrès/Conférence Poster Chapitre de livre Autre Résumé Texte

Titre congrès/conférence (3) : *Atelier de thérapie cellulaire.*

Lieu congrès/conférence : BORDEAUX

Dates : le 15 Décembre 1994

Date limite d'envoi du résumé :

Domaine scientifique :

Date limite d'envoi du texte :

Date limite d'envoi du poster :

ARRIVEE - CIRSTEPAC :
30 NOV 94 007188
[Signature]

Titre du périodique :

Mots clés (en français) :

LANGUE : Français

Comité de lecture de la revue : OUI/NON

IPSN
Crist
PV
Crist
DPHD
EB/LSM
FP
C

Les visas portés ci-dessous attestent que la qualité scientifique et technique de la publication proposée a été vérifiée et que la publication ne divulgue pas d'information brevetable, commercialement utilisable ou classée.

	SIGLE	NOM	DATE	VISA	OBSERVATIONS
Chef de Service	SARAM	J. AIGUEPERSE	16.11.94	<i>[Signature]</i>	
Chef de Département	DPHD	P. GOURMELON	18/11/94	<i>[Signature]</i>	
Directeur de l'IPSN	IPSN	Ph. VESSERON	21 Nov 94	V-	cf autorisations

Si corrections demandées, retour des textes corrigés le plus rapidement possible au Département.
Les correspondants communication des départements se chargent de transmettre à l'INSTN copies des demandes d'autorisation de publication, du résumé et du texte définitif.

(1) Entité d'appartenance de l'auteur. Exemple : IPSN, DRN, CNRS, INSERM, stagiaire,...

(2) Cocher la case correspondante

(3) Titre du congrès dans la langue d'origine. Joindre une copie de l'annonce à la demande

Avertir votre correspondant publication si votre texte est refusé ou transmis à un autre journal ; lui adresser 3 exemplaires des tirés à part.

VOL 27 No 01

IPSN-24-11-94-07700

Approches thérapeutiques du syndrome hématoïétique après irradiation globale accidentelle grave. Intérêt de l'expansion ex vivo des cellules hématoïétiques.

D. THIERRY. Institut de Protection et de Sûreté Nucléaire, Département de protection de la santé de l'homme et de dosimétrie, section autonome de radiobiologie appliquée à la médecine (IPSNCEA, DRHD, SARAH), BP 6, 92265, Fontenay aux Roses Cedex, FRANCE.

L'aplasie est un des principaux syndromes apparaissant après une irradiation globale accidentelle par une source de rayonnements ionisants. Le syndrome hématoïétique est caractérisé par une chute du nombre des cellules sanguines périphériques; la cellularité de la moelle est aussi réduite.

Une baisse du taux de lymphocytes circulants est observée dès 0,3 Gy, cette baisse devient notable à partir de 1 Gy et apparaît 3 jours après l'irradiation. Dès 2 Gy l'ensemble des éléments figurés du sang est abaissé rapidement, le nadir se situant entre 3 et 5 semaines après l'irradiation. Une aplasie médullaire sévère se développe pour des irradiations supérieures à 3 Gy. Ces chiffres sont approximatifs dans la mesure où l'irradiation est rarement homogène et les traitements en changent les effets. Pour le patient, le risque lié aux infections opportunistes et aux hémorragies peut être très élevé, particulièrement si l'aplasie est de longue durée. Un traitement de ces complications est nécessaire à partir d'irradiations de l'ordre du Gray.

Les deux thérapies les plus souvent suggérées actuellement pour le traitement du syndrome hématoïétique post radique grave sont la greffe de moelle osseuse et l'administration de facteurs de croissance hématoïétique in vivo (complétées par la transfusion associée à l'antibiothérapie).

Dans le domaine de la radiopathologie, la greffe de moelle osseuse paraît une indication logique pour les victimes d'une irradiation accidentelle globale à dose élevée. Il s'agit ici de remplacer l'hématoïèse fortement lésée ou anéantie par l'irradiation en apportant entre autres des cellules souches hématoïétiques provenant d'un donneur sain. Des prélèvements de moelle osseuse ou de foie foetal ont été utilisés pour le traitement de victimes d'irradiations accidentelles.

Dans la plupart des irradiations accidentelles la moelle osseuse n'est pas complètement éradiquée, soit parce que l'irradiation est homogène mais la dose n'est pas assez élevée, soit parce qu'une zone de la moelle osseuse a été moins touchée en raison d'une irradiation hétérogène. Il peut y avoir cependant une phase d'aplasie qui se combinant aux autres risques particuliers à l'accident : brûlures, infections (favorisées par la chute des défenses immunitaires), atteintes intestinales (qui peuvent elles mêmes être compliquées par l'hémorragie) présente un risque important pour le patient. L'hématoïèse résiduelle des irradiés accidentels peut, de plus, être responsable du rejet fréquemment constaté des allogreffes de cellules hématoïétiques.

L'expérience de greffe pour les irradiés accidentels est limitée et l'interprétation des résultats difficile, surtout pour les accidents anciens. Il semble cependant que pour l'ensemble des patients traités par cette approche aucun des survivants ne présente de signe détectable de prise à long terme de la greffe (26 greffés dont 7 patients survivants).

Pour plusieurs des patients décédés il s'avère que la greffe a eu un rôle néfaste et a constitué un des éléments aggravant le tableau clinique et conduisant à une issue fatale.

Une greffe avec une prise uniquement transitoire devrait théoriquement permettre au patient de dépasser une phase d'aplasie radioinduite sévère avant qu'il y ait reconstitution autologue (dans une approche comparable à celle de l'utilisation d'un soutien transfusionnel). Cependant les résultats des greffes de Tchernobyl montrent que le concept selon lequel pour le traitement de l'aplasie radioinduite la greffe même transitoire ou sans prise est une opération à faible risque est incorrect, dans la mesure où elle peut entraîner une GVHD, requiert l'utilisation d'immunosuppresseurs toxiques et augmente le risque de pneumopathie interstitielle. De nouvelles approches de la greffe de moelle doivent être envisagées si on souhaite pouvoir utiliser cette technique dans les cas où aucune reprise autologue n'est envisageable (irradiations à doses létales éradicatrices de la moelle osseuse).

Dans les conditions particulières d'un accident d'irradiation, l'utilisation de facteurs de croissance hématopoïétique afin de stimuler l'hématopoïèse résiduelle semble une approche particulièrement favorable. L'action du GM-CSF et de l'IL-3 permet de suggérer aux auteurs du traitement de l'irradié de Nesvizh (Biélorussie, 1991) que les facteurs de croissance combinés à une thérapie transfusionnelle efficace devraient permettre de traiter le syndrome hématopoïétique d'un patient ayant subi une irradiation d'une dizaine de Gy sans avoir recours à la greffe et constitueraient de toute façon la technique de choix pour le traitement des irradiations à des doses sublétales.

Cependant lors des accidents où elle a été utilisée l'infusion de facteurs de croissance n'a pas été un total succès (13 patients traités dont six survivants sortis d'aplasie). Plusieurs patients sont morts d'infections liées à leur état sanitaire médiocre au moment de l'accident. Si les effets secondaires du GM-CSF et de l'IL-3 sont supportables aux doses où ils ont été utilisés, l'inhibition de la migration des granulocytes (liée à la présence de la molécule d'adhésion CD11b sur les cellules en présence de GM-CSF) et l'activation de réactions inflammatoires (notamment au niveau des brûlures radioinduites) peuvent cependant limiter son utilité. En cas d'exposition interne l'utilisation de facteurs de croissance pourrait entraîner la progression des progéniteurs et des cellules souches dans le cycle cellulaire durant l'irradiation. L'action simultanée des facteurs de croissance induisant des mitoses et fragilisant les cellules à l'action des rayonnements ionisants pourrait entraîner une déplétion de la réserve de cellules souches hématopoïétiques disponibles.

Compte tenu de ces observations il paraît important d'étudier la possibilité d'expandre ex vivo les cellules hématopoïétiques du patient pour couvrir les besoins transfusionnels lors d'une phase d'aplasie radioinduite chez les irradiés accidentels.

L'expansion ex vivo des précurseurs hématopoïétiques et des cellules différenciées est une nouvelle approche de l'utilisation thérapeutique des facteurs de croissance. Plusieurs facteurs de croissance ont une utilité réduite in vivo du fait de leurs effets secondaires toxiques, bien que leurs effets sur l'hématopoïèse puissent être importants. La démarche par l'expansion ex vivo devrait permettre leur utilisation sans effet secondaire.

Nos études s'articulent en plusieurs questions :

- Comment produire la quantité de cellules nécessaires aux traitements envisagés?
- Les qualités et les fonctions des cellules produites permettent-elles de traiter tout ou partie d'une aplasie?
- Cette approche est elle applicable dans les conditions particulières du syndrome hématopoïétique

post radique?

Dans un premier temps la faisabilité de l'expansion des granulocytes a été étudiée à partir de prélèvements de moelle osseuse ou de cellules souches périphériques humaines. Après enrichissement des populations cellulaires en cellules immatures deux approches sont étudiées :

-cultures en présence de facteurs de croissance hématopoïétique pour des cultures d'une durée de une à deux semaines.

-cultures sur cellules de micro environnement médullaire d'une durée de un à trois mois.

Dans la première étude, différentes combinaisons et concentrations de facteurs de croissance ont été testées. la concentration cellulaire initiale, la durée des cultures et la maturation des cellules au cours du temps de culture ont été suivis. Cette étude a mis en évidence que dans certaines conditions de cultures (cultures de populations cellulaires fortement enrichies en cellules immatures, combinaison de 5 facteurs de croissance, concentration initiales basse des cellules en culture) il était possible de produire de grandes quantités cellules myéloïdes en cours de différenciation granulocytaire (amplifications de l'ordre de 1800 fois pour les cellules matures et de 200 fois pour les progéniteurs).

Une étude de la faisabilité de l'expansion des cellules myéloïde après irradiation in vitro suggère qu'il soit possible d'expandre des populations de cellules irradiées à doses faibles sans pertes excessives.

Dans la deuxième étude nous avons cherché à nous rapprocher in vitro des conditions d'interactions cellulaires complexes de la moelle osseuse in vivo. Pour cela nous avons pris avantage du récent développement de lignées de stroma médullaire de souris capable de soutenir l'hématopoïèse humaine. Dans ce système de cocultures (cellules immatures humaines, cellules de la lignée MS5) est possible d'expandre des cellules des lignées myéloïdes à un rythme moindre que dans les cultures en présence de facteurs de croissance, mais sur des temps supérieurs de plusieurs semaines, permettant ainsi d'envisager le traitement au long cours d'une aplasie. Une étude qualitative a été menée sur ces cultures.

L'expansion ex vivo des cellules hématopoïétiques n'est envisageable pour le traitement des irradiés accidentels que dans la mesure où il est possible de d'avoir accès à des cellules à cultiver. ^{On a vu} Les cellules

~~intéressantes sont présentes avant l'accident, leur utilisation implique alors la constitution d'une~~ banque de cellules. Il paraît également possible que de telles cellules puissent être trouvées ^{dans le sang} dans le sang ou dans la moelle osseuse et être cultivées en quantité suffisante. L'analyse des cas d'irradiation accidentelle suggère que de telles cellules puissent être trouvées dans le sang circulant après un accident d'irradiation. De plus, nous avons observé la présence de progéniteurs hématopoïétiques circulant dans le sang après des irradiations thérapeutiques champ large.

Des recherches importantes sont encore nécessaires pour adapter l'expansion ex vivo des cellules souches hématopoïétiques, des progéniteurs et des cellules en cours de différenciation au traitement des aplasies radioinduites.