

# *Recommandations pour les greffes de cellules souches hématopoïétiques dans les béta-thalassémies*

## SOMMAIRE

I-INTRODUCTION	3
II-BILAN PRE-GREFFE	5
III-INDICATIONS	11
IV-ADAPTATION DU TRAITEMENT TRANSFUSIONNEL ET CHELATEUR DU FER EN PRE-GREFFE	14
V-CONDITIONNEMENTS DE GREFFE	17
VI-PREPARATION A LA GREFFE PAR SAL ET HYDROXYUREE	20
VII- SOURCES DE CELLULES SOUCHES HEMATOPOIETIQUES	22
VIII-AUTRES	24
1-Pharmacocinétique du Busulfan	
2-Prévention de la GVH	
3-Prévention de la maladie veino-occlusive	
4-Eléments de sélection du donneur	
5-Traitement des surcharges martiales après greffe	

## I-INTRODUCTION

La thalassémie est une maladie rare en France avec un nombre de patients thalassémiques majeurs de l'ordre de 350 (Thuret 2010). Au cours des 40 dernières années, des progrès thérapeutiques réguliers ont transformé le pronostic de cette anémie constitutionnelle, et l'espérance de vie actuelle des patients traités par l'association de transfusions systématiques et d'une chélation du fer régulière, est évaluée à plus de 40 ans (Modell 2000, Borgna-Pignatti 2004). Les progrès de ce traitement dit conventionnel se poursuivent avec la diversification des traitements chélateurs du fer et l'introduction de l'IRM cardiaque dans le dépistage de la surcharge en fer cardiaque à un stade pré-symptomatique (Cappellini 2006, Borgna-Pignatti 2006, Modell 2008, Telfer 2009). L'allongement de l'espérance de vie doit être pondéré par la fréquence des symptômes liés à la surcharge en fer (atteintes cardiaques, hypogonadisme, diabète, hypothyroïdie) qui augmente avec l'âge des patients (Cunningham 2004, Borgna-Pignatti 2004, Thuret 2010) et l'émergence de nouvelles complications telle l'ostéoporose qui retentissent sur la qualité de vie des adultes. De plus seuls les patients compliant à ce traitement à vie peuvent espérer bénéficier des progrès du traitement.

La greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) est une alternative thérapeutique au traitement conventionnel. Elle reste actuellement et en pratique courante le seul traitement curatif (Lucarelli 1990, Giardini 1994, Angelucci 2008). La probabilité de survie sans maladie est de l'ordre de 85 % pour les enfants transplantés avec un donneur HLA identique intra-familial. Elle dépend de facteurs de risque identifiés par l'équipe de Pesaro et dépasse actuellement les 90% pour les enfants de classe 1 greffés précocement (Lucarelli 2008, Lisini 2008). La greffe est donc systématiquement proposée aux enfants disposant d'un donneur HLA-identique intrafamilial.

L'expérience française de 1985 à 2007 a récemment été analysée dans le cadre d'un travail mené par le Centre de Référence Maladies rares des Thalassémies en collaboration avec la SFGM-TC (Galambun 2011). Sur cette période de plus de 20 ans, 108 patients ont été greffés dans 21 centres de greffe. La médiane d'âge à la greffe est de 6.2 ans et 90% des patients ont reçu une greffe à partir d'un frère ou sœur HLA-identique. La probabilité actuarielle de survie à 15 ans est de 86.8% et celle sans thalassémie après la 1<sup>ère</sup> greffe de 69.4%. La principale complication a été le rejet, très fréquent au début des greffes et quand le Sérum Anti-Lymphocytaire (SAL) n'était pas associé au conditionnement par busulfan et endoxan (BuCy). Dans la seconde partie de l'expérience française (après avril 1994, date médiane des 108 greffes) le pourcentage de rejet diminue, rejoignant les chiffres récemment rapportés en Italie et en dehors (Lucarelli 2008, Sabloff 2011). Deux facteurs nous semblent pouvoir expliquer l'incidence accrue de rejets dans l'expérience française :

- l'absence d'évaluation systématique des facteurs de risque selon Pesaro avant la greffe : 42% des patients seulement ont eu une ponction biopsie hépatique (PBH) et la qualité de la chélation préalable à la greffe n'a pas toujours été évaluée.
- la persistance d'une érythroïde thalassémique en pré-greffe, non supprimée par un régime transfusionnel optimal.

L'écriture des recommandations présentées dans ce document a été initiée par le Centre de référence et conduite par un groupe de travail regroupant des membres du Centre de Référence et des représentants de la SFGM-TC impliqués dans la greffe des patients enfants et adultes atteints d'hémoglobinopathie. Elles ont pour objectifs principaux de préciser les indications de greffe, de décrire l'évaluation des traitements pré-greffe et l'adaptation éventuelle du traitement avant la transplantation, les spécificités du bilan pré-greffe, et les principales modalités de transplantation.

**Le groupe de travail est composé comme suit :**

**-membres du centre de Référence maladie rare des Thalassémies (localisé dans les services d'Hématologie Pédiatrique de Marseille et Lyon) : I Thuret et C Pondarré ainsi que les représentants de leur équipe de greffe : C Galambrun, V Mialou, N Bleyzac.**

**-représentants de la SFGM-TC impliqués dans la greffe des patients atteints d'hémoglobinopathie, en particulier de drépanocytose : F Bernaudin, JH Dalle, N Dhedin.**

**Deux relecteurs ont été sollicités du fait de leur expérience dans le domaine : Y Bertrand et G Michel.**

**Le document a été présenté pour validation au conseil scientifique de la SFGM-Tc le 21 Juin 2011.**

## **II-BILAN PRE-GREFFE**

Le bilan prégreffe a pour but d'évaluer

- 1) le retentissement de l'anémie et de la surcharge en fer,
- 2) la toxicité des traitements, de façon :
  - à apprécier l'atteinte des organes vitaux (foie, coeur, poumons, reins)
  - à appréhender les risques à la greffe
  - à pouvoir confirmer l'indication de greffe, proposer des modifications thérapeutiques avant greffe (report de greffe), ou contre-indiquer la greffe si les risques évalués sont trop élevés.

L'évaluation prégreffe des atteintes d'organe est indispensable pour définir précisément quelles sont les atteintes qui peuvent être attribuées à la maladie proprement dite et celles qui seront des conséquences ultérieures de la greffe. Ces évaluations ont déjà été détaillées dans le protocole national de diagnostic et de soins pour une maladie rare (PNDS) « Syndromes thalassémiques majeurs et intermédiaires ».

Le bilan prégreffe comporte des évaluations spécifiques à la thalassémie, et des évaluations systématiques communes à l'ensemble des greffes. Ne seront détaillés ici que les bilans plus spécifiques.

### **1-Le bilan endocrinien**

#### **Argumentaire :**

Il comporte les explorations recommandées dans le PNDS

#### **Recommandations :**

Du fait de la fréquence élevée des complications endocriniennes chez les patients thalassémiques, une exploration endocrinienne est recommandée avant greffe qui comporte

- Un dosage systématique de TSH et T4L
- Une glycémie à jeun, et une glycosurie. Une épreuve de charge orale en glucose pourra être discutée à partir de 10 ans (PNDS).
- Une évaluation de la fonction gonadique à partir de 10 ans
- La recherche d'un déficit en hormone de croissance si retard statural (PNDS)
- Un dosage de PTH à partir de 10 ans et 25-OH Vit D
- Un âge osseux, des radiographies du rachis (si sous déferoxamine)
- Une ostéodensitométrie : à partir de la puberté (PNDS)

Certaines explorations étant d'interprétation difficile, une consultation spécialisée en endocrinologie pédiatrique avant greffe est recommandée.

## **2-Cryopréservation ovarienne, de sperme ou de fragments testiculaires**

### **Argumentaire :**

Le conditionnement myéloablatif est considéré jusqu'à ce jour comme indispensable à la prise de greffe dans les thalassémies. Ce conditionnement (notamment le busulfan) compromet fortement la fertilité chez la femme, et chez l'homme, bien que des cas de grossesse spontanée ou induite aient été observés chez des femmes thalassémiques (ou drépanocytaires) greffées. Dans l'étude rétrospective des 108 patients greffés pour bêta-thalassémie, 6 grossesses ont déjà été observées après Busulfan oral le plus souvent administré à 14 mg/kg/ dose totale. Bien qu'il soit impossible de connaître l'exposition effective au busulfan chez ces patients (pharmacocinétique non disponible à l'époque), il est probable que celle-ci ait pu jouer un rôle et influencer la fertilité.

En dehors du conditionnement proprement dit, l'âge au moment du conditionnement joue un rôle : Par exemple, en ce qui concerne le cyclophosphamide, on sait que l'âge influence le risque de destruction définitive du potentiel ovarien : celle-ci survient à partir de 20 g/m<sup>2</sup> à 20 ans, 9.3 g/m<sup>2</sup> à 30 ans, et 5.2 g/m<sup>2</sup> à 40 ans (données du Centre de Référence sur les Agents Tératogènes, CRAT, Dr. Elefant, Hôpital Trousseau). En pédiatrie, les données sont manquantes. De plus, dans le conditionnement utilisé dans les thalassémies, c'est surtout le busulfan qui est responsable de l'insuffisance ovarienne.

Enfin, et ceci est propre aux thalassémies, la surcharge martiale compromet à elle seule fertilité.

L'ovariectomie unilatérale chez le sujet sain ne semble pas augmenter les risques d'infertilité, mais avance l'âge de la ménopause de 2 à 3 ans (données du CRAT). En situation de dommage ovarien induit par la chimiothérapie, les conséquences de l'ovariectomie unilatérale ne sont pas connues, mais pourraient être significatives.

Chez le garçon, la cryopréservation de fragments testiculaires se développe, et peut être proposée localement selon les possibilités.

### **Recommandations :**

L'absence de données chiffrées, et la multiplicité des facteurs participant aux risques d'infertilité post greffe chez les patients thalassémiques, incitent à la prudence, notamment dans l'information donnée aux familles. Actuellement, la cryopréservation ovarienne ou testiculaire, parce qu'elle offre des possibilités thérapeutiques, nous semble devoir être proposée aux patientes et à leurs familles de manière systématique. Chez le garçon, chaque fois que l'âge le permet, une cryopréservation de sperme doit être proposée

Une consultation spécialisée auprès d'un médecin de Procréation Médicale Assistée peut être proposée avant greffe et dans tous les cas, il est important d'aborder avec les familles, les difficultés reproductives attendues, liées à la greffe et à la maladie thalassémique.

### **3-Evaluation des organes vitaux**

L'atteinte d'organes dans la thalassémie est liée majoritairement à la surcharge en fer, parfois à la toxicité des traitements chélateurs, plus rarement actuellement aux infections virales post transfusionnelles. Les atteintes d'organes liées aux conséquences de l'anémie chronique ne sont plus observées chez les patients suivis et traités en France.

Pour l'évaluation de la charge martiale, il est important d'intégrer, en plus des taux de ferritinémies, les outils récents tels que les IRM hépatique et cardiaque:

#### 3-1-Ferritinémie :

##### **Argumentaire :**

Malgré des valeurs « récentes » correctes de ferritinémie, des atteintes organiques peuvent s'être développées, à l'occasion d'une surcharge en fer antérieure.

##### **Recommandations :**

Les valeurs moyennes annuelles de ferritinémies sont utiles à connaître, non seulement sur les années qui précèdent la greffe, mais chaque fois que possible, sur toutes les années antérieures.

#### 3-2-Evaluation hépatique :

##### **Argumentaire :**

Dans les études « anciennes » rapportées par l'équipe italienne sur 398 biopsies hépatiques (Giardini 1994) la prévalence de la fibrose hépatique est de 10% avant 4 ans, 35% entre 4 et 7 ans. Ces pourcentages sont vraisemblablement plus faibles aujourd'hui du fait de la rareté actuelle des contaminations virales transfusionnelles. La fibrose hépatique survenant en règle pour des concentrations en fer hépatique supérieures à 15mg/g de foie sec (concentrations obtenues approximativement après > 15 transfusions de 15ml/kg), surcharge en fer précédant vraisemblablement de plusieurs mois la fibrose, l'âge au début du régime transfusionnel et de la chélation influencent le risque et l'âge de survenue d'une fibrose.

Pour la quantification de la fibrose, nous recommandons l'utilisation du score de Métavir F0 à F4 (score utilisé et reconnu au niveau international pour évaluer les lésions hépatiques d'origine virale)

- \*F0 absence de fibrose
- \*F1 élargissement fibreux des espaces portes (EP)
- \*F2 septa fibreux < 50% des EP
- \*F3 ponts fibreux > 50% EP
- \*F4 cirrhose (nodules de régénération)

L'évaluation de la fibrose hépatique par des outils non invasifs tels que l'élastométrie (fibroscan) est en cours d'étude chez l'enfant (PHRC national comparant l'élastométrie aux données de la biopsie hépatique, quelle que soit la pathologie hépatique sous jacente : Investigateur principal Florence Lacaille, Necker). Nous encourageons les équipes à

participer à ce PHRC (centres participants à Paris, Lyon, Lille, Bordeaux, Toulouse) et à rechercher chaque fois que possible une fibrose hépatique par fibroscan.

### **Recommandations :**

Les explorations sont en partie celles développées dans le PNDS, et comportent systématiquement :

- Un bilan biologique (non spécifique à la thalassémie) explorant la fonction hépatique : TGO, TGP, GGT, PAL, Bilirubine,  $\pm$   $\alpha$ FP
- Une échographie hépatique et biliaire
- Une IRM hépatique pour l'évaluation de la charge hépatique en fer. La détermination de la concentration hépatique en fer reste l'examen de référence pour apprécier la charge globale en fer de l'organisme. Elle est indiquée à partir de 4 ans. Entre 2 et 4 ans on peut surseoir à l'IRM si le traitement chélateur a été adéquat (cf ci-dessous pour la définition de chélation adéquate) et si les apports transfusionnels sont connus. On rappelle que les valeurs de concentration hépatique en fer sont exprimées en  $\mu$ mol/g de foie sec pour l'IRM hépatique (à diviser par 17.8 pour convertir en mg de fer par g de foie sec).
- Une ponction-biopsie hépatique (PBH) pour l'évaluation morphologique de l'état hépatique, et pour la quantification de la fibrose : La PBH est indiquée à partir de 4 ans, ou plus tôt en cas de chélation inadéquate, ou d'affection hépatique surajoutée (contamination virale en particulier). Pour la quantification de la fibrose, nous recommandons l'utilisation du score de Métavir.

Lorsqu'une anesthésie générale est nécessaire pour la biopsie hépatique, il est recommandé de coupler la PBH à la pose du cathéter veineux central et aux prélèvements ovarien ou testiculaire.

La quantification de la concentration hépatique en fer par biopsie hépatique n'a plus d'indication actuelle (à elle seule), et elle est remplacée par l'IRM.

### **3-3-Evaluation cardiaque :**

Recommandations : les explorations sont en partie celles développées dans le PNDS, et comportent systématiquement :

- Un examen clinique cardiologique, une échographie cardiaque avec doppler pour évaluation de la fonction systolique, diastolique et des pressions pulmonaires, un ECG pour la recherche des troubles du rythme.
- Une IRM cardiaque pour l'évaluation de la surcharge en fer myocardique (mesure du T2\*). L'IRM cardiaque permet également le calcul fiable et reproductible de la fraction d'éjection systolique.

L'IRM cardiaque est recommandée dans le cadre du bilan prégreffe dès l'âge de 10 ans. Dès lors que la chélation a été inadéquate, la surcharge cardiaque peut apparaître plus tôt, et l'IRM cardiaque doit être réalisée à partir de 6 ans.

### **3-4-Evaluation rénale :**

Recommandations : les explorations comportent systématiquement :

- Une évaluation de la fonction rénale par des examens biochimiques simples sanguins et urinaires (ionogramme sanguin et urinaire sur 24h) avec mesure de la fonction



glomérulaire (clairance à la créatinine) et tubulaire (taux de réabsorption des ions, clairance de l'acide urique, bêta-2-microglobulinurie, et osmolalité urinaire).

- De nombreux rapports soulignant d'une part la fréquence de la toxicité rénale du déférasirox, d'autre part la sous-estimation de l'atteinte rénale par les techniques biochimiques simples, nous recommandons la réalisation d'une Exploration Fonctionnelle Rénale avec mesure de la fonction glomérulaire (clairance à l'Inuline) et tubulaire avant greffe, dès lors que la chélation a comporté du déférasirox, et que l'âge de l'enfant le permet (vidanges vésicales sur mesure).
- Nous recommandons par ailleurs l'interruption du traitement par déférasirox 15 j à 1 mois avant le début du conditionnement.

### 3-5-Evaluation respiratoire :

Les recommandations sont communes à l'ensemble des greffes

- Une exploration fonctionnelle respiratoire est recommandée avant greffe, dès que l'âge de l'enfant le permet (équipements variables selon les centres)

### 3-6-Evaluations auditive et visuelle :

Elles sont recommandées avant greffe, pour l'évaluation de la toxicité potentielle des traitements chélateurs.

## **4-Facteurs de risque**

### Argumentaire :

Les facteurs de risque d'échec de greffe (survie, EFS) ont été identifiés par les études italiennes, et restent d'actualité. Nous proposons de continuer à utiliser la **classification italienne de Pesaro** (Giardini 1994) mais d'y intégrer les outils thérapeutiques et diagnostiques plus récents.

a) Qualité de la chélation martiale : A l'époque des premières études italiennes, seule la déféroxamine était utilisée. La diversification actuelle des chélateurs nous semble devoir être intégrée pour la définition de chélation adéquate. Une chélation adéquate est une chélation permettant d'éliminer une quantité de fer équivalente à la quantité de fer apportée par les transfusions. Celle-ci peut être calculée selon la formule suivante :

Apport de fer en mg = volume (en ml) de globules rouges purs (hématocrite de la poche X volume de la poche) X 1.08 (mg Fe) (Cohen 2005).

Une chélation adéquate est définie sur les critères suivants :

1) chélation mise en route dans les 18 mois à partir de la première transfusion ;

2) selon un mode adapté

-pour la déféroxamine : perfusion continue de 8 à 12 h, au moins 5j sur 7 (références italiennes)

-pour le déférasirox : doses adaptées aux apports transfusionnels : apports transfusionnels de fer > 0.5 mg/kg/j, dose de déférasirox >30 mg/kg/j ; apports transfusionnels de fer > 0.25 mg/kg/j et < 0.5 mg/kg/j, dose de déférasirox entre 20 et 30 mg/kg/j ; apports transfusionnels de fer < 0.25 mg/kg/j dose de déférasirox = 20 mg/kg/j)

-pour la déféripone, posologie minimale de 75 mg/kg/j

- 3) maintien d'une charge en fer modérée sur tout l'historique du patient : ferritines moyennes annuelles < 1500 ng/ml, IRM hépatique toujours < 15 mg/g (270  $\mu$ mol/g), et T2\* cardiaque toujours >20 msec
- b) Présence ou non d'une hépatomégalie > 2 cm sous le rebord costal
- c) Présence ou non d'une fibrose hépatique évaluée par histologie

**Recommandations :**

Il est recommandé avant la greffe d'évaluer les facteurs de risque d'échec de greffe et d'appliquer la classification italienne de Pésaro selon les 3 critères ci-dessus: chélation adéquate, hépatomégalie et fibrose

Classe I : chélation adéquate, hépatomégalie  $\leq$  2 cm, absence de fibrose

Classe II : Présence de 1 ou 2 critères/3

Classe III : Présence des 3 critères

### III-INDICATIONS DES GREFFES

#### Argumentaire :

#### **1-Greffes HLA-identiques intrafamiliales**

La greffe est indiquée pour tout enfant ou adolescent atteint d'une thalassémie majeure ayant un donneur HLA-identique intra-familial.

Le diagnostic de Beta-Thalassémie Majeure doit être établi. La définition retenue est celle des registres anglais et français : patient nécessitant un régime transfusionnel systématique au long cours institué avant l'âge de 4 ans. La mise en route du régime transfusionnel est indiquée sur la sévérité de l'anémie (jugée sur la tolérance clinique et un taux d'Hb < 7-8 gr/dl) ou plus rarement sur la gravité des déformations osseuses liées à l'expansion médullaire (PNDS Syndromes Thalassémiques 2008). La décision des transfusions systématiques est prise après une courte période d'observation initiale permettant de vérifier la récurrence d'une anémie chronique sévère. La dépendance transfusionnelle est définie comme un minimum de 8 séances transfusionnelles/an (ce qui correspond environ à un volume minimum de 100 ml/kg/an de concentrés de globules rouges).

L'indication de greffe est étendue aux formes de Béta-Thalassémie Intermédiaire nécessitant au cours de leur évolution un régime transfusionnel systématique au long cours (même définition de la dépendance transfusionnelle que pour les TM en nombre et volume de transfusions) du fait de l'aggravation de l'anémie au cours du temps (au-delà de l'âge de 4 ans par définition) ou de la sévérité des signes de dysérythropoïèse (conséquences fonctionnelles des tumeurs hématopoïétiques extra-médullaires). L'indication de greffe est posée après échec des autres alternatives de traitement, en particulier traitement par Hydréa, splénectomie, érythropoïétine (Bradai 2003, Karimi 2005, Singer ST 2005, Borgna-Pignatti 2007, Singer TA 2011). La greffe est également discutée en cas de thalassémie intermédiaire nécessitant des transfusions occasionnelles chez un patient présentant une impasse transfusionnelle.

Concernant l'âge à la greffe, il est plutôt recommandé d'attendre l'âge de 2 ans : ceci est justifié par le temps d'observation nécessaire pour affirmer le caractère majeur de la thalassémie et les données de pharmacocinétique du Busulfan (Bu) (Dalle JH 2003, Vassal 2008). Dans l'expérience française de nombreux rejets avant l'âge de 2 ans ont été observés, peut être en raison des données de pharmacocinétique du Bu per os ou du fait que le régime transfusionnel institué en pré-greffe était insuffisant pour supprimer efficacement l'érythropoïèse thalassémique (Galambroun 2011). Après l'âge de 2 ans, la greffe sera réalisée le plus tôt possible afin de limiter les conséquences de la surcharge en fer, non seulement pendant la greffe (toxicité immédiate) mais aussi à distance, la fréquence des retards de croissance staturale et de l'hypogonadisme post-greffe étant fonction de l'âge à la greffe. Plusieurs études ont montré que l'importance du retard statural et/ou la taille définitive étaient fonction de l'âge à la greffe (> ou <7 ans) (De Simone 1995, 2001, Li 2004, Vlachopapadopoulou 2005). Les résultats préliminaires des patients allogreffés en France retrouvent que l'hypogonadisme est plus fréquent chez les filles et que la médiane d'âge à la greffe est de 11.4 ans pour les patients présentant cette complication (versus 5.9 ans pour les patients sans hypogonadisme).

L'impact de l'âge sur la survie post-greffe est également retrouvée en variable continue en analyse univariée dans l'expérience française.

La question de l'indication d'une greffe à partir de la fratrie HLA-identique se pose rarement pour un patient devenu adulte : les résultats chez l'adulte étant inférieurs à ceux de l'enfant avec une mortalité liée à la greffe de 25-30% dans la littérature (Lucarelli 1999). Dans l'expérience française une mortalité significativement plus élevée est également retrouvée pour les patients de plus de 18 ans. L'indication de greffe sera posée au cas par cas en fonction principalement de la présence d'atteintes d'organe pouvant contre-indiquer la préparation myéloablative, des motivations du patient et de sa qualité de vie sous traitement conventionnel (Caocci 2006).

## **2-Greffes pheno-identiques**

Les résultats rapportés par les équipes italiennes chez l'enfant relatent une mortalité de 20% et une survie sans thalassémie (TFS) de l'ordre de 70% pour des greffes réalisées à partir de donneurs non apparentés identiques 10/10 voire davantage (cf haplotypes étendus/ancestraux, compatibilité DP) (La Nasa 2002, 2005, Fleischhauer 2006). L'incidence de la GVHa de grade II-IV est de 40% et celle de la GVH chronique de 18% (La Nasa 2005). Les risques de mortalité et de GVH sont donc nettement plus élevés dans les greffes à partir d'un donneur phéno-identique.

Les résultats des greffes de sang placentaire non apparenté montrent également une survie sans thalassémie inférieure à celle observée après greffe de sang placentaire à partir d'un donneur géno-identique. Récemment, deux séries ont rapporté chacune le devenir de 35 enfants avec des résultats très opposés (Ruggeri 2011, Jaing 2011). Dans celle multicentrique rapportée par Eurocord et regroupant les résultats de 3 registres sur une longue période avec des préparations différentes, la survie est de 62% et la survie sans thalassémie seulement de 20%. Dans la seconde (Taiwan) rapportant des greffes très récentes (entre fin 2003 et fin 2009) réalisées dans un seul centre, à partir de greffons riches (double cordon dans 32% des cas), préparées par BuCy SAL, la mortalité est faible (12%) et la TFS de 74%. 14 patients ont développé une GVH chronique (limitée pour 13). On rappelle qu'en situation HLA-identique, la mortalité liée à la greffe de sang placentaire chez les patients atteints de thalassémie ou de drépanocytose est rapportée comme quasi-nulle (Locatelli 2003, Lisini 2008, Bernaudin 2011).

Compte tenu de l'amélioration continue de l'espérance et de la qualité de vie des patients sous traitement conventionnel associant transfusions et chélation du fer, le recours à un donneur non apparenté n'est à discuter que lorsqu'il existe une impasse de ce traitement conventionnel :

-Impasse transfusionnelle par alloimmunisation anti-érythrocytaire et/ou hémolyse retardée rendant impossible la conduite optimale du régime transfusionnel (Sabine 2010). Cette situation est rare dans la thalassémie.

-Impossibilité de conduire le traitement chélateur du fer, cas de figure également devenu rare compte tenu de la diversification des traitements chélateurs

-Retour dans un pays d'origine où la conduite du traitement standard est impossible

## **Recommandations :**

### THALASSEMIES MAJEURES

La greffe est indiquée pour tout enfant ou adolescent atteint d'une thalassémie majeure ayant un donneur HLA-identique intra-familial. Il est plutôt recommandé d'attendre l'âge de 2 ans : ceci est justifié par le temps d'observation nécessaire pour affirmer le caractère majeur de la thalassémie et les données de pharmacocinétique du Bu. Après l'âge de 2 ans, la greffe est proposée rapidement pour en diminuer les risques toxiques et limiter les conséquences de la surcharge en fer. Chez l'adulte, cas de figure rare, l'indication de greffe géno-identique sera posée au cas par cas en fonction de la présence d'atteintes d'organe pouvant contre-indiquer la préparation myélo-ablative, de la qualité de vie sous traitement conventionnel et des motivations du patient.

Compte-tenu des progrès du traitement conventionnel, les greffes à partir d'un donneur non apparenté ou de sang placentaire de banque ne se discutent qu'en cas d'impossibilité de conduire le traitement transfusionnel et/ou chélateur du fer.

### THALASSEMIES INTERMEDIAIRES

L'indication de greffe HLA-identique intra-familiale est étendue aux formes sévères de Thalassémie Intermédiaire nécessitant un régime transfusionnel systématique au long cours institué plus tardivement dans l'enfance ou en cas d'impasse transfusionnelle. La greffe est généralement proposée après échec des autres alternatives de traitement en particulier de l'Hydréa.

## IV-ADAPTATION DU TRAITEMENT TRANSFUSIONNEL ET CHELATEUR EN PRE-GREFFE

### Argumentaire :

#### Patients de classe 1 et 2

1-Adaptation du traitement transfusionnel : il est recommandé dans les 3 à 6 mois pré-greffe d'assurer par le régime transfusionnel un taux d'Hb pré-transfusionnel au moins égal à 10gr/dl (Cazzola 1995) afin de supprimer efficacement l'érythropoïèse thalassémique en pré-greffe et de favoriser par la suite la prise du greffon. S'il existe des signes francs d'expansion de l'érythropoïèse thalassémique (déformations osseuses, volumineuse hépato-splénomégalie et à fortiori tumeurs hématopoïétiques extra-médullaires) un traitement associé par hydréa est proposé. On rappelle que les traitements par transfusions et l'Hydréa sont associés à un moindre risque d'hématopoïèse extra-médullaire chez les sujets thalassémiques intermédiaires et constituent la principale modalité de traitement des tumeurs hématopoïétiques (Taher 2010).

2-Adaptation du traitement chélateur : les critères de chélation optimale seront vérifiés car l'objectif est d'arriver à la greffe avec une surcharge en fer faible afin d'en limiter la toxicité immédiate et à distance de la greffe. Les critères de chélation optimale sont les suivants (Guidelines TIF, PNDS) :

- Ferritinémies  $\leq 1000$  ng/ml
- Absence de surcharge cardiaque en fer : T2\* cardiaque (T2 star ou T2 étoile)  $\geq 20$  ms. L'examen est pratiqué chez l'enfant à partir de 10 ans ou avant s'il a été non ou insuffisamment chélaté (Cf. indication de l'IRM cardiaque et définition d'une chélation adéquate dans le bilan pré-greffe)
- Concentration en fer intra-hépatique  $\leq 10$  mg/gr de foie sec ce qui correspond à 180 micromoles/gr en IRM

Si ces critères ne sont pas remplis, l'intensification de la chélation avant la greffe doit être discutée. Cette étape d'intensification de la chélation peut donc conduire à un report de la greffe. En cas de surcharge majeure la greffe est contre indiquée temporairement. Les critères de surcharge en fer majeure sont des ferritinémies  $\geq 2500$  ng/ml, un T2\* cardiaque  $< 10$  ms et une concentration en fer hépatique  $> 20$ mg/g de foie sec ( $> 350$  micromoles) (Olivieri 1994, Brittenham 1994, Angelucci 2002, Kirk 2009).

Les modalités de l'intensification de la chélation (augmentation des doses du chélateur déjà prescrit, chélation par déféroxamine 7j/7 sur 12 à 24H IV, bithérapie le plus souvent associant déféripone et déféroxamine) seront définies en fonction de la sévérité de la surcharge en fer, de sa localisation cardiaque et/ou hépatique et du temps disponible avant greffe (Anderson 2004, Tanner 2007). On rappelle que la surcharge en fer cardiaque s'améliore sous traitement chélateur plus lentement que celle hépatique (Anderson 2004).

Du fait de leur profil de toxicité (hématologique pour la déféripone et rénal glomérulaire ou tubulaire pour le déférasirox) (Cohen 2003, Cappellini 2007) les 2 chélateurs

oraux sont à stopper 15 à 30 jours avant le début du conditionnement. La déferoxamine peut être poursuivie.

### **Patients de classe 3**

Les stratégies de suppression maximale de l'érythropoïèse thalassémique et d'immunosuppression renforcée indiquées pour les patients de classe 3 sont développées dans le chapitre conditionnement des classes 3

#### 3-Splénectomie

Dans la littérature 1 seule étude a analysé spécifiquement l'impact de la splénectomie avant greffe (Mathews 2008). Les 29 patients splénectomisés, tous de classe 3 de Pesaro, ont eu des délais plus brefs de prise que les non-splénectomisés mais sans que cela ne se traduise par un impact significatif sur le rejet. Les sujets splénectomisés ont présenté davantage de décès infectieux précoces ou tardifs. Il n'y a pas eu d'analyse multivariée ni d'ajustement sur la préparation (BuCy versus BuCy SAL)

Dans l'expérience française, 26 % des patients étaient splénectomisés avant la greffe. La splénectomie n'a pas eu d'impact sur la survie et dans l'analyse multivariée elle est de manière significative associée à une meilleure survie sans thalassémie (Galambrun 2011). Bien que plus âgés, les patients splénectomisés sont peu surchargés en fer (ferritinémie médiane à 925 ng/ml) et sont rarement de classe 3. En France, la splénectomie a été très pratiquée dans le cadre du traitement conventionnel afin de limiter les besoins transfusionnels. Elle pourrait refléter dans notre expérience nationale une prise en charge plus attentive de la surcharge en fer. Egalement une volumineuse splénomégalie témoigne d'un régime transfusionnel insuffisant. Elle est associée au risque de séquestration des cellules du greffon infusé et à un risque accru de rejet.

En conclusion, si une volumineuse splénomégalie persiste malgré 3 à 6 mois de traitement transfusionnel assurant un taux d'Hb pré-transfusionnel d'au moins 10 gr/dl en pré-transfusionnel éventuellement associé à un traitement par hydréa, la splénectomie avant greffe est proposée. La pratique d'une splénectomie partielle est privilégiée afin de limiter les risques infectieux à distance de l'intervention la greffe et lors de la greffe.

#### **Recommandations :**

**Traitement transfusionnel :** Il est recommandé dans les 3-6 mois pré-greffe de supprimer efficacement l'érythropoïèse thalassémique par un régime transfusionnel assurant un taux d'Hb pré-transfusionnel au moins égal à 10gr/dl. S'il existe des signes francs d'expansion des déformations osseuses, une volumineuse hépato-splénomégalie et à fortiori des tumeurs hématopoiétiques extra-médullaires, un traitement associé par hydréa est proposé.

**Traitement chélateur du fer :** Il est recommandé d'atteindre en pré-greffe les critères de chélation optimale attestant d'une surcharge en fer faible/modérée :

- Ferritinémies  $\leq 1000$  ng/ml
- Absence de surcharge cardiaque en fer : T2\* cardiaque (T2 star ou T2 étoile)  $\geq 20$  ms

- Concentration en fer intra-hépatique  $\leq 10$  mg/gr de foie sec ce qui correspond à 180  $\mu$ moles/gr en IRM

Si ces critères ne sont pas remplis, la chélation doit être intensifiée avant la greffe. Cette intensification est impérative s'il existe des signes de surcharge sévère (cf critères dans l'argumentaire).

**Splénectomie** : si une volumineuse splénomégalie persiste malgré 3 à 6 mois de traitement transfusionnel assurant un taux d'Hb pré-transfusionnel d'au moins 10 gr/dl en pré-transfusionnel, éventuellement associé à un traitement par hydréa, la splénectomie avant greffe est proposée. Une splénectomie partielle est privilégiée.

**Préparation des patients de classe 3** : Cf chapitre conditionnement des classes 3



## V- CONDITIONNEMENTS DE GREFFE

### Argumentaire :

#### *Greffes de moelle osseuse en situation génoidentique et intrafamiliale HLA identique :*

Les premières greffes dans la thalassémie ont été réalisées par les équipes Italiennes, et le conditionnement majoritairement utilisé a été l'association busulfan/cyclophosphamide (BuCy).

L'expérience Italienne publiée en 1990 par Lucarelli rapporte le devenir de 222 patients greffés par busulfan 14 mg/kg dose totale (DT) et Endoxan 200 mg/kg DT avec une survie sans thalassémie (TFS) de 75% sur l'ensemble de la population étudiée mais très différente entre les classes 1 et 3 de Pesaro (respectivement de 94% et 53%). De la même manière l'incidence du rejet varie selon la classification de Pesaro avec 0% de rejet pour les classes 1, 9% pour les classes 2 et 16% pour les classes 3 (Lucarelli 1990).

Dans une publication de Giardini reprenant 484 patients, les mêmes résultats sont rapportés pour les classes 1 (59 patients, TFS 94%) et les classes 2 (173 patients, TFS 85%). Pour les classes 3, un conditionnement réduit est utilisé (Endoxan 120 mg/kg dose totale) et du sérum antilymphocytaire (SAL) est ajouté. La TFS rapportée est à 70% (31 patients). (Giardini 1994)

L'expérience Française rapportée par le centre de référence des thalassémies et la SFGM-TC porte sur 108 patients allogreffés sur une période de 22 ans (Galambun 2011). Le conditionnement par busulfan à des doses myéloablatives de 14 à 20 mg/kg dose totale et cyclophosphamide 200 mg/kg dose totale initialement utilisé est marqué par une incidence très élevée de rejet (37%) incitant progressivement à rajouter du SAL. Majoritairement utilisé depuis 1994, le SAL a permis de réduire l'incidence du rejet à moins de 10%. Pour les patients ayant reçu du SAL en plus du conditionnement chimiothérapique par BuCy, la TFS est de 82.5% soit tout à fait comparable à celle décrite par les séries Italiennes sur des périodes équivalentes. L'expérience Française n'est pas isolée, et l'incidence élevée de rejet est rapportée par la plupart des équipes nationales hors Italie, conduisant à des stratégies d'intensification par SAL pour la plupart. Une équipe Hollandaise rapporte 21 patients greffés après un conditionnement par Busulfan et Endoxan. Pour 15 d'entre eux du SAL a été rajouté et du Melphalan pour 11 autres afin de réduire l'incidence des rejets élevée avec BuCy seul (45%) (Ball 2003).

Dans une revue Américaine récente rapportant 179 greffes génoidentiques (1995-2001 ; 19 centres de part le monde), l'adjonction de SAL au conditionnement majoritairement utilisé par Busulfan 16 mg/kg/DT et Endoxan 200 mg/kg DT a été fréquente (43% des greffes) et l'incidence de rejet est de 9.4% pour l'ensemble des patients (Sabloff 2011).

L'expérience anglaise (55 greffes génoidentiques entre 1991 et 2001 sur 2 centres) utilise le SAL dans 51 des 55 greffes associé à un conditionnement classique par BuCy majoritaire (seul 7/55 BuCy+Fludarabine). Dans cette étude l'incidence de rejet de 13.2% et la TFS à 81.8% (Lawson 2003).

Enfin 155 greffes génoidentiques, réalisées dans un seul centre Iranien entre 1993-2008 l'ont été après un conditionnement par BuCy et SAL. Le rejet représente 12.9% des greffes pour une TFS de 72% (Ramzi 2010).

On peut noter que l'ajout du SAL avait été recommandé dans les greffes pour drépanocytose à partir de 1992 (Bernaudin 2007).

Le conditionnement « historique » et dont on a le plus l'expérience dans les thalassémies reste l'association BuCy +- SAL. Cependant, plus récemment, les équipes Italiennes de Pavia ont utilisé un autre conditionnement, associant Busulfan 16 mg/kg DT, Thiotepe : 10 mg/kg DT, et Fludarabine 160 mg/m<sup>2</sup> DT, sans SAL (91 greffes) quel que soit le type de greffon (24 greffes de sang placentaires). La TFS dans cette étude est de 85% avec 12% de rejet ou non prises (Lisini 2008).

Au final la plupart des expériences hormis les dernières publications Italiennes rapportent des expériences similaires à l'expérience Française avec un conditionnement homogène par Busulfan, Endoxan et SAL pour la plupart en particulier pour les stades de Pesaro 2 et 3.

Les habitudes en France sont relativement homogènes malgré le grand nombre de centres greffeurs (21 centres) puisque ce conditionnement a été retenu dans 88% des cas, associé avec du SAL dans 74% des patients au delà de 1994 (date médiane des 108 greffes analysées). L'adjonction de SAL a permis de réduire les rejets et non prises de 34,7% à 10,5%.

### ***Greffes de sang placentaire :***

L'expérience des greffes de sang placentaires en situation génoidentique ou intrafamiliale est peu importante en France. Seules 9 allogreffes ont été réalisées à partir de sang placentaire au moment de la fin de l'étude (décembre 2007) et 8 d'entre elles ont été conditionnées par BuCy200. Seule une de ces 9 greffes a reçu un conditionnement par Fludarabine, Busulfex et Thiotepe comme récemment décrit par les équipes Italiennes. Plus récemment, parmi les 14 greffes enregistrées dans Promise en France en 2008, 2009 et 2010, 7 ont été réalisées à partir d'un greffon de sang placentaire apparenté (6 préparées par BuCy).

### ***Greffes des patients classe 3 de Pesaro et patients adultes:***

Les patients de classe 3 constituent une petite cohorte dans la série française avec seulement 5 patients et 12 si on y ajoute ceux présumés classe 2 ou 3 par manque d'éléments objectifs permettant une classification solide. Aucune stratégie particulière n'a été adoptée pour ces patients là. L'expérience Italienne est la seule à considérer spécifiquement ces patients à haut risque de toxicité et de non prise. Le protocole « 26 » a été développé à partir de 1997 avec l'objectif de freiner totalement l'érythropoïèse thalassémique et d'intensifier l'immunosuppression afin de réduire le risque de non prise ou rejet dans cette catégorie de patients. Il prévoit une préparation avant greffe comprenant 3 mg/kg d'Azathioprine et 30 mg/kg d'Hydroxyurée à partir de J-45 de la greffe. Durant cette période d'hospitalisation les patients bénéficient d'un régime d'hypertransfusion afin de maintenir le taux d'Hb > 14 g/dl et une chélation maximale par Deferoxamine à 40 mg/kg IV continu sur cathéter central. Un soutien par GCSF et érythropoïétine permet de poursuivre le traitement par Hydroxyurée et Azathioprine. Le conditionnement qui a varié un peu selon les études associe Fludarabine : de 20 à 30 mg/m<sup>2</sup> de J-17 à J-13 (100 à 150 mg/m<sup>2</sup> DT), Busulfex : 14 à 16 mg/kg dose totale et Endoxan 160 à 200 mg/kg dose totale ± Thiotepe. Avec ce renforcement thérapeutique la TFS de cette population est de 85% avec une incidence de rejet de 8% seulement rejoignant le pronostic des classes 1 et 2 (Sodani 2004). Pour les patients adultes, compte-tenu d'une toxicité accrue et d'un faible risque de rejet, la dose d'Endoxan est abaissée à 90mg/kg DT. (Lucarelli 2008)

### ***Cas particulier du Treosulfan :***

De plus en plus de littérature aujourd'hui rapporte des expériences de conditionnements à base de Treosulfan en remplacement du Busulfex. Dans les thalassémies tout particulièrement, un article fait état d'un conditionnement associant Treosulfan, Thiotepe 8 mg/kg DT et Fludarabine 160 mg/m<sup>2</sup> DT avec des résultats pour des greffes non apparentées, identiques à ceux observés pour des greffes génoidentiques intrafamiliales. (Bernardo 2008).

Il est probable que l'utilisation du Treosulfan s'accroisse dans l'avenir en raison d'une pharmacocinétique semble-t-il plus stable que le Busulfan et d'une moindre toxicité potentielle.

### ***En cas de seconde allogreffe après rejet d'un premier greffon***

Une étude italienne (Gaziev) rapporte des résultats tout à fait satisfaisants pour des deuxièmes greffes.

La préparation est identique à celle proposée pour les greffes de patients classe 3 ou adulte et associée :

Fludarabine : 30 mg/m<sup>2</sup> de J-16 à J-12 (150 mg/m<sup>2</sup> DT)

Busulfex : 14 mg/kg DT (14 doses)

Thiotepa : 10 mg/kg DT en 2 doses

Endoxan : 200 mg/kg DT

SAL (Thymoglobulines GENZYME): 12.5 mg/kg DT

Une autre étude rapporte elle 50% d'échec (décès liés au rejet) et souligne l'impact d'un délai de plusieurs mois entre les 2 greffes (Stepensky 2009).

### **Recommandations :**

En cas de greffe HLA identique intrafamiliale avec un greffon de moelle osseuse ou de sang placentaire pour les patients de classe 1 ou 2 de Pesaro:

○ *Conditionnement recommandé:*

Busulfex® doses équivalentes 16 mg/kg DT (adaptées au poids du patient selon recommandations du laboratoire producteur) durant 4 jours,

Endoxan® (cyclophosphamide) 200 mg/kg DT (soit 50 mg/kg/j pendant 4 jours)

Sérum Anti Lymphocytaire (Thymoglobulines, Genzyme) 20 mg/kg dose totale (soit 5 mg/kg/j pendant 4 jours).

\* posologies recommandées de Busulfex® :

- < 9 kg : 1 mg/kg/dose x 4/jour
- 9 à 16 kg : 1.2 mg/kg/dose x 4/jour
- 16 à 23 kg : 1.1 mg/kg/dose x 4/jour
- >23 à 34 kg : 0.95 mg/kg/dose x 4/jour
- > 34 kg : 0.8 mg/kg/dose x 4/jour

○ *Alternative :* Etant donné les données récentes de la littérature, un conditionnement par Busulfex® 16 mg/kg DT sur 4 jours, Thiotepa® : 10 mg/kg DT en 2 doses sur 1 jour, et Fludarabine® 160 mg/m<sup>2</sup> DT sur 4 jours sans SAL, peut représenter une alternative au classique Bu16Cy200 et SAL 20

En cas de greffe HLA identique intrafamiliale pour les enfants Classe 3 de Pesaro :

Il s'agit d'une situation rare en France. En raison de la spécificité de ces greffes, il paraît légitime de discuter l'indication de greffe au cas par cas à l'occasion des RCP nationales du centre de référence des thalassémies. Le conditionnement sera discuté sur la base de l'expérience Italienne selon un schéma qui associe une phase préparatoire lourde visant à freiner au maximum l'érythropoïèse et à réduire la charge martiale, et un conditionnement renforcé.

Ce schéma (appelé protocole 26) dans l'expérience Italienne a été modulé au fil des publications avec des posologies variables de fludarabine et d'endoxan mais repose sur une même base :

*Préparation à partir de J-45 pré-greffe en hospitalisation par une association de :*

Azathioprine et Hydroxyurée

Régime d'hypertransfusion

Chélation renforcée par Deferoxamine en IV continu

Soutien par GCSF et érythropoïétine si nécessaire

*Conditionnement par Busulfex (16mg/kg), Endoxan (160 mg/kg), Fludarabine (150mg/m<sup>2</sup>) et SAL 7.5 à 10 mg/kg DT.*

## **VI- PREPARATION A LA GREFFE PAR SAL ET HYDROXYUREE**

### **Argumentaire :**

L'équipe de Lucarelli la première dans un article paru dans Blood en 2004 préconise un régime pré-greffe afin de diminuer l'érythroïdèse excessive et de réduire les risques immunitaires des patients classe 3 considérant qu'il s'agit d'un paramètre essentiel dans le rejet de greffe de cette catégorie de patients. Ce régime prévoyait une hospitalisation pré-greffe dès J-45 pour parfaire la chélation avec Desferal : 40 mg/kg IVC sur 24h, une association d'Azathioprine : 3 mg/kg/j et Hydroxyurée : 30 mg/kg/jour et un régime transfusionnel amélioré afin de maintenir une Hb > 14 g/dl. Avec cette préparation et un conditionnement par Busulfan (14 mg/kg dose totale), Fludarabine durant 5 jours 100 mg/m<sup>2</sup> dose totale et Cyclophosphamide 160 mg/kg dose totale, il augmente la survie sans thalassémie de 58 à 85% en comparaison à des publications historiques et diminue le rejet de 30 à 8%. (Sodani 2004). Gaziev reprend cette pratique systématiquement pour préparer les deuxièmes greffes avec un conditionnement renforcé par du Thiotepa et des thymoglobulines. La survie sans thalassémie est très nettement améliorée à 79% contre des séries précédentes de 25 à 29%. Le rejet n'est que de 6%. (Gaziev 2008)

Hongeng en Thaïlande applique la même démarche en administrant 20 mg/kg/j d'Hydroxyurée aux thalassémiques classe 3 de Lucarelli 3 mois avant allogreffe et prévoit des lymphoglobulines pour faciliter la prise de greffe. Les résultats sont excellents dans cette étude avec une survie sans thalassémie de 100%. (Hongeng 2008)

L'expérience française qui reprend 108 patients greffés de 1985 à 2007 montre l'impact du SAL dans la prise de greffe avec en analyse univariée une survie sans thalassémie de 82.3% pour les patients traités par SAL contre 55.1% pour ceux n'ayant pas reçu de SAL (p=0.002) et sur le rejet avec 10,5% de rejet pour les patients traités par SAL contre 34,7% pour ceux n'en ayant pas reçu (p=0,003).

L'évolution va donc se faire vers une utilisation plus systématique des thymoglobulines avec 74% des patients recevant du SAL après 1994 contre 26% avant 1994. Les posologies utilisées ne sont pas homogènes de 7,5 mg/kg à 20 mg/kg DT, la posologie de 20mg/kg étant utilisée de façon régulière par l'équipe Lyonnaise (premier centre greffeur dans les thalassémies).

Cette attitude est en adéquation avec l'expérience des greffes chez les patients drépanocytaires qui a également montré l'impact positif du SAL sur le risque de rejet. La posologie de SAL recommandée dans les greffes pour drépanocytose est de 20mg/kg DT (expérience de 74 greffes à Saint Louis à cette posologie avec une bonne tolérance et une bonne efficacité).

## **Recommandations :**

Concernant le SAL : au vu de l'expérience, française les recommandations actuelles sont l'utilisation systématique de sérum antilymphocytaire (thymoglobulines Genzyme) pour tout patient thalassémique en association avec le conditionnement chimiothérapique recommandé par Bu16Cy200.

La posologie recommandée est de 20 mg/kg dose totale délivrée sur 4 jours durant le conditionnement.

Concernant l'utilisation de l'Hydroxyurée :

Classe 1 et 2 de Pesaro : L'utilisation de l'hydroxyurée avant l'allogreffe peut être discutée car facilitateur de la prise de greffe en cas d'érythroïèse excessive évidente. Cependant son indication n'est pas systématique en raison de sa toxicité médullaire imposant des mesures associées de soutien hématopoïétique et en l'absence de bénéfice réellement établi dans cette population de patients.

Classe 3 de Pesaro : La préparation à la greffe doit s'attacher à freiner l'érythroïèse thalassémique au maximum afin de réduire les risques de rejet ou non prise. Cette préparation comporte la prescription d'Hydréa à 30 mg/kg/j en association aux autres mesures (cf conditionnement de classes 3)

## VII- SOURCES DE CELLULES SOUCHES HEMATOPOIETIQUES (CSH)

### Argumentaire :

Les modalités de greffe doivent permettre d'assurer une prise de greffe tout en prévenant de manière efficace la maladie du greffon contre l'hôte (GVH) dont on n'attend aucun bénéfice dans cette pathologie non maligne. Comparativement aux allogreffes réalisées pour des hémopathies malignes, le risque de non prise ou de rejet est plus élevé en raison de l'érythro-poïèse inefficace et parce que les patients sont préalablement moins immunodéprimés par les traitements. L'administration d'un greffon riche en CSH permet de diminuer le risque de non prise ou de rejet : cela a été montré dans les greffes à conditionnement réduit, dans les greffes réalisées à partir de donneurs partiellement HLA incompatibles et dans les greffes de sang placentaire. Pour cette raison, il sera recommandé d'utiliser des greffons riches en CSH.

Dans la  $\beta$ -thalassémie, la majorité des allogreffes sont réalisées à partir de donneurs HLA identiques. Deux sources de CSH sont principalement utilisées : la moelle et le sang placentaire. En théorie, les greffes de sang placentaire sont associées à une incidence de GVH plus faible, mais une incidence de non prise ou rejet plus élevée.

### **1-Greffons médullaires :**

Dans la série rapportée initialement par Lucarelli (Lucarelli 1990) incluant 222 patients de Classe 1 à 3 selon la classification de Pesaro, greffés après un conditionnement associant du busulfan (14 mg/kg DT), le nombre médian de cellules nucléées médullaires totales (CNT) injectées était de  $4.10^8$ /kg de receveur. L'incidence de non prise était de 12% dans la population générale et plus élevée chez les patients de classe 3. Après modification des modalités de traitement pré-greffe et du conditionnement, le taux de non prise n'était plus que de 8% chez des patients de classe 3 ayant reçu un greffon contenant en médiane  $2,9 .10^8$  CNT/kg (Sodani 2004).

A noter que s'il est recommandé d'administrer un greffon médullaire riche en CNT, aucune étude à ce jour ne montre d'impact sur la prise de greffe du nombre de cellules injectées en situation géno-identique

### **2-Greffons de sang placentaire :**

L'utilisation de greffon de sang placentaire permet de réduire le risque de GVH par rapport à ce qui est rapporté après greffe de moelle. En revanche, le nombre de CSH est limité et expose à un risque de non prise ou de rejet supérieur. Dans une étude comparant le devenir d'enfants greffés à partir de moelle ou sang placentaire géno-identiques, l'incidence de survie est comparable quelque soit la source de CSH : de l'ordre de 85 % à 3 ans dans les hémopathies non malignes (Rocha 2000). Dans les greffes de sang placentaire, il existe une corrélation entre la reconstitution hématopoïétique et le nombre de cellules injectées. Cependant, cela est surtout vrai pour les greffes réalisées à partir d'un donneur non apparenté, c'est-à-dire dans des situations où il existe des mismatch HLA entre le donneur et le receveur (Gluckman 1997).

Les travaux principaux concernant les allogreffes de sang placentaire dans la bêta thalassémie ont été rapportés par l'équipe de Locatelli (Locatelli 2003). Il s'agit de greffes de sang

placentaire géno-identiques réalisées presque exclusivement chez des enfants. Dans cette première série rapportée, multicentrique et européenne de 33 patients, la dose médiane de cellules nucléées totales est de  $4.10^7$  CNT et l'incidence de non prise de 21%. L'utilisation du méthotrexate en prévention de la GVH explique une part importante des échecs puisque dans une analyse ultérieure d'eurocord de 70 greffes de sang placentaire apparenté réalisées pour thalassémie ou drépanocytose l'EFS est de 56% avec méthotrexate versus 92% sans (Boncimino 2010). Plus récemment, l'équipe de Pavia (Italie) a comparé le devenir de patients greffés soit à partir de donneur de moelle géno-identiques, soit de donneurs de moelle non apparentés, soit d'unités de sang placentaire géno-identiques (Lisni 2008). Dans cette série il n'a pas été observé de rejet ou de non prise chez les 27 patients greffés à partir d'un greffon de sang placentaire, malgré l'existence d'un chimérisme mixte chez environ la moitié des patients. Ces patients avaient reçu en médiane  $3,3.10^7$  CNT/kg de receveur avec des extrêmes allant de 0.15 à  $6.10^7$  CNT/kg de receveur. Aucun n'a présenté de GVH et aucun n'est décédé. Il semble donc que pour des greffes de sang placentaire réalisées en situation géno-identique après un conditionnement très immunosuppresseur (ici BU/Flu/TT) une quantité de CNT de l'ordre de  $3.10^7$ /kg soit suffisante pour assurer une prise de greffe satisfaisante.

Il est proposé d'effectuer un prélèvement de moelle en complément du greffon de sang placentaire quand la dose de cellules du sang de cordon prélevées est  $<$  à  $3.10^7$  CNT/kg de receveur. Cela a été réalisé pour 4 patients thalassémiques sur les 23 greffés en France avec un sang placentaire géno-identique (données SFGM 2010) et également rapporté pour 4/14 enfants greffés dans le cadre du programme national américain de cryopréservation de sang placentaire apparenté (Moelle ou CSP, Walters 2006).

### **Recommandations :**

Il est recommandé d'utiliser un greffon médullaire ou de sang du cordon et dans la mesure du possible d'utiliser un greffon riche en CSH.

#### **1-Greffon médullaire :**

S'il existe dans la fratrie, un frère ou une sœur géno-identique, la source de CSH choisie sera de la moelle en essayant de constituer un greffon atteignant  $4.10^8$  CNT/kg de receveur. Pour mémoire, dans les hémopathies malignes, la dose de CNT habituellement recommandée est de  $3.10^8$  CNT/kg de receveur.

#### **2-Greffons de sang placentaire :**

La dose de CSH recommandée dans un greffon de sang placentaire est d'au moins  $3.10^7$  CNT/kg (avant décongélation).

L'organisation en amont de la collecte et de la cryopréservation des sangs placentaires de la fratrie des enfants atteints de beta-thalassémie est recommandée.

#### **3-Greffons de sang placentaire et boost de moelle :**

Dans le cas où l'unité de sang placentaire contient moins de  $3.10^7$  CNT/kg de receveur, il est recommandé de prélever un boost de moelle chez le même donneur quand son âge et son poids le permettront.

## VIII- AUTRES

### 1-Pharmacocinétique du Busulfan

#### Argumentaire :

##### 1-1- Nécessité du suivi thérapeutique

La pharmacocinétique du busulfan présente une importante variabilité inter-individuelle. L'utilisation du busulfan intraveineux avec une stratification des doses en fonction du poids a cependant permis d'augmenter à 80% le nombre d'enfants dans la fourchette thérapeutique définie par le laboratoire producteur comme étant une AUC par dose comprise entre 900 et 1500  $\mu\text{M}\cdot\text{min}$  (Michel 2011).

Cependant, avec ces mêmes doses en fonction du poids (doses AMM), ce pourcentage diminue autour de 60% seulement pour les enfants thalassémiques (Gaziev 2010, Chiesa 2010), avec 27 à 34% des patients en dessous et 7 à 17% des patients au dessus de l'intervalle thérapeutique.

Dans ces conditions, un suivi thérapeutique avec dosages plasmatiques du busulfan après la 1<sup>ère</sup> dose est indispensable. De plus, une saturation du métabolisme a été rapportée pour certains patients (Gaziev 2010) entraînant une diminution de la clairance du busulfan à partir de J2. Ainsi, des valeurs normales pour les dosages de J1 ne permettent pas de conclure que le patient ne sera pas surdosé pour le reste du conditionnement. C'est pourquoi il semble nécessaire de répéter les dosages plasmatiques après la dose 5.

Il n'a pas pu être identifié de facteurs de risque de paramètres pharmacocinétiques déficients chez les patients (Chiesa 2010). En outre, la ferritinémie pré-greffe, la fibrose hépatique, l'hépatite B, une élévation des transaminases, l'âge ou le sexe n'entraîne pas forcément une surexposition au busulfan. C'est pourquoi tous les patients sans exception devraient faire l'objet d'un suivi thérapeutique avec mesure des concentrations plasmatiques de busulfan.

##### 1-2- Choix de l'AUC cible

L'AUC cible par dose recommandée par le laboratoire producteur est de 900 à 1500  $\mu\text{M}\cdot\text{min}$ . Cependant, devant le risque potentiel de toxicité hépatique, certains visent spontanément une fourchette un peu plus basse chez les patients thalassémiques: 850-1200  $\mu\text{M}\cdot\text{min}$  (Elhasid 2010) ou 900-1350  $\mu\text{M}\cdot\text{min}$  (Gaziev 2010), en moyenne par dose pour l'ensemble du conditionnement.

Bien que d'une manière générale, la MVO n'ait jamais été réellement associée à des valeurs bien définies d'AUC (en dehors d'AUC très supérieures à la fourchette thérapeutique classique), le risque de MVO semble augmenté chez les thalassémiques pour des AUC > à 1350  $\mu\text{M}\cdot\text{min}$  (Gaziev 2010).

Les rejets de greffe n'ont pas été associés à des valeurs basses d'AUC chez les patients thalassémiques (Gaziev 2010, Chiesa 2010)



Etant donné les fréquentes diminutions de clairance du busulfan en cours de conditionnement, Gaziev et al recommandent de se situer dans les valeurs basses de la fourchette pour l'AUC de la 1<sup>ère</sup> dose.

### **1-3- Génotypage de la GST**

Le busulfan est métabolisé principalement dans le foie par la glutathion-S-transférase, majoritairement par l'isoforme GSTA1, la contribution des isoformes GSTM1 et GSTP1 étant faible.

Bien que l'activité hépatique de la GST soit corrélée avec la clairance du busulfan, il est encore une fois difficile de prévoir le métabolisme du busulfan chez les patients thalassémiques, y compris ceux présentant une déficience hépatique, en raison notamment de l'existence d'une activité plasmatique de la GST possiblement libérée lors de cytolyse hépatique, activité que l'on ne retrouve pas chez les patients candidats à la greffe pour d'autres pathologies (Poonkuzhali 2001).

Par ailleurs, il semble y avoir des interactions entre la surcharge en fer et l'activité GST qui peuvent être contradictoires et empêcher une corrélation claire entre activité GST et surcharge en fer. En effet, si la GST peut être induite par la surcharge en fer par la voie du Nr1h2/keap1 (Bouligand 2007), une délétion des gènes GSTT1/GSTM1 a été associée à une surcharge plus élevée (Sharma 2010).

C'est sans doute en liaison avec l'ensemble de ces aspects que l'influence du polymorphisme de la GSTA1 sur la pharmacocinétique du busulfan reste aujourd'hui controversée. En effet, certains auteurs ont pu démontrer une association entre la présence de variants de la GSTA1 et une clairance moins importante du busulfan (Johnson 2008, Elhasid 2010) ou pas (Zwaveling 2008, Bredschneider 2002). A noter cependant que dans l'étude d'Elhasid et al, une corrélation est rapportée uniquement avec l'AUC/kg, paramètre peu pertinent en clinique, et que la corrélation disparaît si on ne considère que le paramètre AUC classique.

De plus, le génotypage de la GST serait intéressant si l'influence de son polymorphisme sur la clairance du busulfan était importante, ce qui ne semble pas être toujours le cas. En effet Gaziev et al (2010) ne rapportent qu'une diminution de 10% chez les patients GSTA1\*B, ce qui est sans conséquence clinique (la variabilité des techniques analytiques étant de plus située autour de 10%).

A l'heure actuelle, nous ne disposons pas d'éléments suffisants pour conduire à recommander le génotypage GST systématique des patients thalassémiques avant la greffe. Les résultats publiés jusqu'à ce jour devront être confirmés sur des séries plus importantes.

### **Recommandations :**

Le busulfan est administré par voie intraveineuse à raison de 4 doses par jour pendant 4 jours. Les posologies recommandées par l'AMM du Busilvex par tranche d'âge sont celles à utiliser pour fixer la posologie à J1.

En raison d'une part, d'une très grande variabilité pharmacocinétique interindividuelle du busulfan chez les thalassémiques, et d'autre part du risque d'une

saturation importante et imprévisible du métabolisme hépatique du patient, un suivi des concentrations plasmatiques du busulfan est recommandé et doit être réalisé à J1 et à J2, soit aux doses 1 et 5.

Les centres réalisant les dosages plasmatiques du busulfan sont actuellement : Paris, Strasbourg, Lyon et Marseille. Il est possible de bénéficier d'une aide logistique via l'inclusion du patient dans l'observatoire pharmacocinétique actuellement en cours en contactant les Laboratoires Pierre Fabre. Une plaquette avec toutes les coordonnées est disponible dans chaque centre de greffe.

Les valeurs cibles d'AUC pour la dose 1 sont les valeurs basses de la fourchette classique, soit entre 900 et 1200  $\mu\text{M}\cdot\text{min}$ . Les valeurs cibles d'AUC pour la dose 5 sont situées entre 900 et 1350  $\mu\text{M}\cdot\text{min}$ .

Les AUC pourront être estimées par le laboratoire Pierre Fabre dans le cadre de l'observatoire ou par les centres doseurs (sinon, possibilité de contacter l'IHOP-Lyon au 04 69 16 65 96).

A l'heure actuelle, le génotypage de la GST n'est pas recommandé.

## **2-Prévention de la GVH**

La prévention de la GVH doit être réalisée par la ciclosporine, 3 à 5 mg/kg IV à débiter dès J-1 de l'allogreffe selon les habitudes de service : en 2 perfusions intraveineuses de 2 heures toutes les 12 heures ou en intraveineux continu jusqu'à relais per os. Un suivi thérapeutique précis des concentrations sanguines de ciclosporine doit être réalisé, avec des dosages sanguins 2 à 3 fois par semaine jusqu'à la sortie d'aplasie. Les valeurs cibles des concentrations sanguines résiduelles sont comprises entre 150 et 180 ng/ml.

### **Recommandations :**

- *Prophylaxie de la GVH pour les greffes de moelle HLA-identique intrafamiliale :*  
Ciclosporine : 3 à 5 mg/kg IV selon les habitudes de service : intraveineux continu ou 2x 2h avec un suivi pharmacocinétique. Le traitement par ciclosporine est maintenu pendant une durée de 6 mois minimum et diminué jusqu'à l'arrêt sur une durée de 3 mois.  
L'association au Méthotrexate « court » : 10 mg/m<sup>2</sup> à J+1, J+3 et J+6 est optionnelle.
- *Prophylaxie de la GVH pour les greffes de cordons géno-identiques :*  
Ciclosporine : 3 à 5 mg/kg IV selon les habitudes du service : intraveineux continu ou en 2x 2h. La corticothérapie associée n'est pas nécessaire en situation intrafamiliale HLA identique.  
Les injections de méthotrexate sont contre-indiquées pour les greffes de sang placentaire. Le traitement par ciclosporine est maintenu pendant une durée de 6 mois minimum et diminué jusqu'à l'arrêt sur une durée de 3 mois.

### **3-Prévention de la maladie veino-occlusive**

#### **Argumentaire :**

La thalassémie elle-même ainsi que les conditionnements par busulfan sont considérés comme des facteurs de risque de maladie veino-occlusive (MVO).

A l'exception du Défibrotide, les données de la littérature ne permettent pas de recommander de traitement prophylactique efficace en terme de MVO (héparine, Ac. Ursodeoxycholique...) En l'absence de facteur de risque surajouté le traitement prophylactique est laissé à l'appréciation des centres greffeurs (avec la possibilité de se reporter aux recommandations de la SFGM-TC). Dans l'expérience française 14 patients sur 89 (15.7%) ont développé une MVO après une première greffe, et 2 (2,2%) en sont décédés.

Une seule publication rapporte l'expérience du Défibrotide préventif systématique chez des patients thalassémiques considérés à haut risque de MVO (classe 2 ou 3 de Pesaro : 55 /57 patients), concentration en fer hépatique élevé (> 360 µmol/g en IRM), hépatite C positif pour 1/3 d'entre eux). Dans cette étude le Défibrotide est délivré par voie orale, voie non utilisée classiquement en France (mais disponible en ATU) du début du conditionnement à J+30 de la greffe. Aucun des patients traités selon ce schéma prophylactique n'a développé de MVO (Capelli 2009).

Il n'existe pas de données bibliographiques spécifiques quant à l'utilisation de l'acide urso-desoxycholique dans la prévention de la maladie veino-occlusive hépatique chez les patients thalassémiques. En conséquence l'utilisation de cette molécule est laissée à l'appréciation du centre de greffe.

#### **Recommandations :**

Le Défibrotide est recommandé en cas de facteur de risque ajouté lié au patient : thalassémies stade 3 de Pesaro, hépatite B ou C, ATCD d'hépatopathies ou en cas de deuxième greffe.

Il sera utilisé selon des schémas classiques de prophylaxie, déjà appliqués à d'autres pathologies soit une posologie de 25 mg/kg/jour par voie IV en 4 injections par 24h à partir du début du conditionnement et jusqu'à J28.

### **4-Eléments de selection du donneur**

#### **Argumentaire :**

- L'analyse de l'expérience française n'a pas montré d'impact d'un trait thalassémique chez le donneur sur la survie sans thalassémie et le rejet. (Galambrun 2011). Cependant on préférera un donneur AA à un hétérozygote (facilite un prélèvement de moelle plus riche du donneur, une restauration plus rapide et complète de l'anémie, la conduite des saignées post-greffe si elles sont indiquées)
- Du fait d'une fréquente consanguinité, un parent peut être HLA-identique à son enfant malade: s'il existe un frère ou une sœur HLA-identique la greffe à

partir d'un membre de la fratrie sera préférée. Les greffes à partir d'un parent semblent s'accompagner plus fréquemment de rejet, ce qui a conduit l'équipe de Pesaro à ajouter du SAL au classique BuCy. Dans l'expérience française les quelques greffes réalisées à partir d'un parent se sont compliquées fréquemment (rejet, GVH). On ne dispose pas de série chez les patients thalassémiques comparant les résultats des greffes parentales HLA-identiques à celles à partir de la fratrie.

- En cas de disponibilité dans la fratrie de plusieurs donneurs HLA-identiques seront privilégiés la compatibilité ABO, un poids plus élevé (afin de favoriser la richesse du greffon médullaire), le statut CMV et EBV négatifs.
- Il est recommandé de faire systématiquement un dosage du G6PD au donneur et la recherche d'une triplication du gène alpha en cas de trait thalassémique, en particulier si le donneur est très jeune (cordons !) : il s'agit d'un facteur aggravant du trait thalassémique pouvant entraîner un tableau de thalassémie intermédiaire (Traeger-Synodinos1996).

### **Recommandations :**

- En cas de disponibilité dans la fratrie de plusieurs donneurs HLA-identiques, seront privilégiés l'absence de trait thalassémique, la compatibilité ABO, un poids plus élevé (afin de favoriser la richesse du greffon médullaire), le statut CMV négatif. Une greffe à partir de la fratrie HLA-identique sera préférée à un autre type de greffe apparentée HLA-identique (parents)

## **5-Réduction de la surcharge martiale post-greffe**

### **Argumentaire**

La surcharge en fer doit et peut facilement être réduite en post-greffe. En effet, il a été parfaitement montré (Angelucci 2002) que le degré de surcharge en fer et l'infection à HCV étaient des facteurs indépendants et significatifs de risque d'évolution vers la fibrose hépatique chez les patients ex-thalassémiques. Par ailleurs, les fonctions cardiaques s'améliorent en postgreffe en relation avec la diminution du stock ferrique (Mariotti 1998) Aussi, il est capital de réduire la surcharge en fer en post-greffe. Plusieurs méthodes ont été utilisées: les phlébotomies et les chélateurs du fer. Les saignées en post-greffe ont parfaitement démontré leur efficacité (Angelucci 1997, 1998) : des saignées de 6ml/kg effectuées tous les 14 jours chez 47 ex-thalassémiques ont permis de réduire très significativement et de façon sécuritaire les taux de Ferritine, de transaminases, de normaliser les coefficients de saturation de la sidérophiline et la concentration ferrique évaluée par PBH ainsi que le grade histologique d'hépatite chronique. Certains auteurs ont utilisé la

déferoxamine (DFO) en post-greffe couplée ou non aux phlébotomies (Giardini 1995). Plus récemment le Deferasirox a été proposé (Unal 2010). Le point important est de démarrer précocement le traitement de la surcharge en fer en post-greffe, non pas sur des valeurs de ferritinémies qui sont systématiquement plus élevées dans la première année post-greffe (effet de l'inflammation via la GVH par exemple), mais sur des critères de charge hépatique élevée en fer avant ou après greffe ( $> 7 \text{ mg/g}$  soit  $> 125 \text{ } \mu\text{mol/g}$ ). Il est également capital d'avoir en tête les toxicités potentielles des chélateurs oraux, en particulier rénale pour le Deferasirox, ou hématologique pour la Deferiprone. Par ailleurs les phlébotomies stimulant l'érythropoïèse, il existe un risque théorique, mais non documenté de stimulation des érythroblastes du receveur en cas de chimérisme mixte défavorable. Enfin, les carences en folates pouvant freiner l'érythropoïèse, les phlébotomies doivent être associées à une supplémentation en acide folique (lederfoline  $25 \text{ mg/j}$ , ou spéciafoline  $5 \text{ mg/j}$ ).

### **Recommandations**

Du fait de la toxicité potentielle des chélateurs oraux (en particulier associés à la Ciclosporine prescrite jusqu'à 9 mois post-greffe), de la contrainte liée à l'utilisation de la déferoxamine, la solution de loin la plus sécuritaire et la moins onéreuse durant la période immédiate post-greffe est le recours aux phlébotomies. En cas de surcharge hépatique en fer, avant ou après greffe ( $> 125 \text{ } \mu\text{mol/g}$ ), nous recommandons des saignées de  $5 \text{ ml/kg}$  dès que et tant que le taux d'Hb est  $> 10 \text{ g/dl}$ . Les patients ont le plus souvent un KT central dans les 3 premiers mois post-greffe ce qui facilite cette pratique pouvant ainsi être réalisée à chaque passage en hôpital de jour et pouvant être poursuivie à un rythme plus lent lors des consultations suivantes (en général tous les 15 jours de 3 à 6 mois puis tous les mois de 6 à 12 mois). En cas de surcharge importante les saignées peuvent être rapprochées à tous les 15j mais nécessitent alors des passages supplémentaires à l'hôpital. Dès l'arrêt de la Ciclosporine le déférasirox peut être recommandé et maintenu jusqu'au but souhaité (Ferritine  $< 500 \text{ ng/ml}$ , IRM hépatique  $< 125 \text{ } \mu\text{mol/g}$ ). En l'absence de support transfusionnel, nous préconisons des doses initiales de déférasirox faibles de l'ordre de  $10\text{-}20 \text{ mg/kg/j}$ . La posologie sera adaptée par la suite à la tolérance et à l'efficacité.

## Références

Anderson LJ, Westwood MA, Holden S et al. Myocardial iron clearance during reversal of siderotic cardiomyopathy with intravenous desferrioxamine : a prospective study using T2\* cardiovascular magnetic resonance. *Br J Haematol* 2004;127:348-355.

Angelucci E and Baronciani D. Allogeneic stem cell transplantation for thalassemia major. *Haematologica* 2008; 93:1780-1.

Angelucci E, Muretto P, Nicolucci A, et al . Effects of iron overload and hepatitis C virus in determining progression of liver fibrosis in thalassemia following bone marrow transplantation. *Blood* 2002 ;100:17-21.

Angelucci E, Muretto PDE, Lucarelli CG et al, Treatment of Iron Overload in the “Ex-Thalassemic” Report from the Phlebotomy Program *Annals New York Academy of Sciences* 1998, 288-293

Angelucci E, Muretto P, Lucarelli G, et al. Phlebotomy to reduce iron overload in patients cured of thalassemia by bone marrow transplantation. *Blood*. 1997;90:994-998.

Ball LM, Lankester AC, Giordano PC, et al. Paediatric allogeneic bone marrow transplantation for homozygous beta-thalassemia, the Dutch experience. *BMT* 2003;31:1081-1087 .

Bernardo ME, Zecca M, Piras E, et al. Treosulfan-based conditioning regimen for allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in patients with thalassemia major. *BJH* 2008;143: 548-551.

Bernaudin F, Socié G, Kuentz M at al. for the SFGM-TC  
Long-Term results of Related Myeloablative Stem Cell Transplantation to Cure Sickle Cell Disease. *Blood*, 2007 ;110 :2749-2756

Bernaudin F et al. Related Myeloablative Geno-identical SCT to Cure Sickle Cell Anemia: Update of the French experience. Présenté en avril 2011 au congrès de l'EBMT (European Bone Marrow transplant) 2011, Paris.

Boncimino A, Bertaina A, Locatelli F. Cord blood transplantation in patients with hemoglobinopathies. *Transfus Apher Sci*. 2010; 42: 277-281.

Borgna-Pignatti C, Rugulotto S, De Stefano, et al. Survival and complications in patients with thalassemia major treated with transfusion and deferoxamine. *Haematologica* 2004;84:1187-1193.

Borgna-Pignatti C, Cappellini M, De Stefano P, et al. Cardiac morbidity and mortality in deferoxamine or deferiprone-treated patients with thalassemia major. *Blood* 2006;107:3733-3737.

Borgna-Pignatti C. Modern treatment of thalassemia. *Br J Haematol* 2007;138:291-304.

Bouligand J, Deroussent A, Simonnard N, et al. Induction of glutathione synthesis explains pharmacodynamics of high-dose busulfan in mice and highlights putative mechanisms of drug interaction. *Drug Metab Dispos* 2007;306-314.

Bradai M, Abad M, Pissard S, et al. Hydroxyurea can eliminate transfusion requirements in children with severe  $\beta$ -thalassemia. *Blood* 2003;102:1529-1530.

Bredschneider M, Klein K, Mürdter TE, et al. Genetic polymorphisms of glutathione S-transferase A1, the major glutathione S-transferase in human liver: consequences for enzyme expression and busulfan conjugation. *Clin Pharmacol Ther* 2002;71:479-87.

Brittenham GM, Griffith P, Nienhuis A, et al. Efficacy of deferoxamine in preventing complications of iron overload in patients with thalassemia major. *N Eng J Med* 1994;331:567-573.

Caocci G, Pisu S, Argioli F, et al. Decision-making in adult thalassemia patients undergoing unrelated bone marrow transplantation: quality of life, communication and ethical issues. *Bone Marrow Transplant* 2006;37:165-9.

Cappellini MD, Cohen A, Piga A, et al. A phase 3 study of deferasirox (ICL670), a once-daily oral iron chelator, in patients with beta-thalassemia. *Blood* 2006;107:3455-62.

Cappelli B, Chiesa R, Evangelio C, et al. Absence of VOD in paediatric thalassaemic HSCT recipients using defibrotide prophylaxis and intravenous Busulfan. *BJH* 2009;147;554-560.

Cazzola M, De Stefano P, Ponchio L, et al. Relationship between transfusion regimen and suppression of erythropoiesis in  $\beta$ -thalassemia major. *Br J Haematol* 1995;89:473-478.

Chiesa R, Cappelli B, Crocchiolo R et al. Unpredictability of intravenous busulfan pharmacokinetics in children undergoing hematopoietic stem cell transplantation for advanced beta thalassemia: limited toxicity with a dose-adjustment policy. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010;16:622-8.

Cohen AR, Galanellio R, Piga A, et al. Safety and effectiveness of long-term therapy with the oral iron chelator deferiprone. *Blood* 2003;102:1583-1587.

Cohen AR, Glimm E and Porter JB. Effect of transfusional iron intake on response to chelation therapy in beta-thalassemia major. *Blood* 2008;11:583-587.

Cunningham M, Macklin E, Neufeld E et al. Complications of  $\beta$ -Thalassemia major in North America. *Blood* 2004;104:34-39.

Dalle JH, Wall D, Theoret Y, et al. Intravenous busulfan for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in infants: clinical and kinetic results. *Bone Marrow Transplant* 2003;32:647-651.

De Simone M, Oliosio P, Di Bartolomeo P, et al. Growth and endocrine function following bone marrow transplantation for thalassemia. *Bone marrow transplant* 1995;15:227-233.

De Simone M, Verrotti A, Iughetti L, et al. Final height of thalassemic patients who underwent bone marrow transplantation during childhood. *Bone Marrow Transplant* 2001;28 : 201-5.

Elhasid R, Krivoy N, Rowe J et al. Influence of glutathione S-transferase A1, P1, M1, T1 polymorphisms on oral busulfan pharmacokinetics in children with congenital hemoglobinopathies undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Blood Cancer* 2010;55:1172-9.

Fleischhauer K, Locatelli F, Zecca M, et al . Graft rejection after unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation for thalassemia is associated with non permissive HLA-DPB1 disparity in host-versus-graft direction. *Blood* 2006;107:2984-92.

Galambrun C, Bertrand Y, Loundou A, et al. For the rare French disease center for Thalassemia and the French Society of Bone Marrow Transplantation (SFGM-Tc). Hematopoietic Stem Cell transplantation for Beta-Thalassemia Major: the French Experience. Présenté en avril 2011 au congrès de l'EBMT (European Bone Marrow transplant) 2011, Paris. Soumis à publication.

Gaziev J, Sodani P, Lucarelli G, et al. Second hematopoietic SCT in patients with thalassemia recurrence following rejection of first graft. *BMT* 2008;42:397-404.

Gaziev J, Nguyen L, Puozzo C et al. Novel pharmacokinetic behavior of intravenous busulfan in children with thalassemia undergoing hematopoietic stem cell transplantation: a prospective evaluation of pharmacokinetic and pharmacodynamic profile with therapeutic drug monitoring. *Blood* 2010;115:4597-604.

Giardini C, Angelucci E, Lucarelli G, et al. Bone marrow transplantation for thalassemia. Experience in Pesaro, Italy. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1994;16:6-10.

Giardini C, Galimberti M, Lucarelli G, et al. Desferioxamine therapy accelerates clearance of iron deposits after bone marrow transplantation. *Br J Haematol.* 1995;89:868-873.

Gluckman E, Rocha V, Boyer-Chammard A, et al. Outcome of cord-blood transplantation from related and unrelated donors. Eurocord Transplant Group and the European Blood and Marrow Transplantation Group. *N Engl J Med* 1997;337:373-81.

Guidelines for the clinical management of thalassemia. 2nd Edition. Thalassemia International Federation (TIF) Dec 2007, [www.thalassaemia.org.cy](http://www.thalassaemia.org.cy).

Hannema SE, Brand A, Van Meurs A, et al. Delayed hemolytic reaction with hyperhemolysis after first red blood cell transfusion in beta-thalassemia : challenges in treatment. *Transfusion* 2010;50:429-432.

Hongeng S, Pakakasama S, Chuansumrit A, et al. Outcomes of transplantation with related- and unrelated donor stem cells in children with severe thalassemia. *BMT* 2006;12:683-687.

Jaing TH, Hung IJ, Yang CP, et al. Unrelated cord blood transplantation for thalassemia: a single-institution experience of 35 patients. *Bone Marrow Transplant* 2011 mars 7. Epub



Johnson L, Orchard PJ, Baker SK et al. Glutathion-S-transferase A1 genetic variants reduce busulfan clearance in children undergoing hematopoietic cell transplantation. *J Clin Pharmacol* 2008;48:1052-1062.

Karimi M, Darzi H, Yavarian M. Hematologic and clinical responses of thalassemia intermedia patients to hydroxyurea during 6 years of therapy in Iran. *J Pediatr Hematol Oncol* 2005;27:380-385.

Kirk P, Roughton M, Porter JB, et al. Cardiac T2\* magnetic resonance for prediction of cardiac complications in thalassemia major. *Circulation* 2009;120:1961- 1968.

La Nasa G, Giardini C, Argioli F, et al. Unrelated donor bone marrow transplantation for thalassemia : the effect of extented haplotypes. *Blood* 2002;99:4350-4356.

La Nasa G, Argioli F, Giardini C, et al. Unrelated bone marrow transplantation for beta-thalassemia patients: the experience of Italian bone marrow transplant group. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1054:186-195.

La Nasa G, Caocci G, Argioli F, et al . Unrelated donor stem cell transplantation in adult patients with thalassemia. *Bone Marrow Transplant* 2005;36:971-5.

Lawson S, Roberts IAG, Amrolia P, et al. Bone marrow transplantation for beta-thalassemia major: the UK experience in two paediatric centres. *BJH* 2003;120:289-295.

Li CK, Chik KW, Wong GW, et al. Growth and endocrine function following bone marrow transplantation for thalassemia major. *Pediatr Hematol Oncol* 2004;21:411-9.

Lisini D, Zecca M, Giorgiani G, et al. Donor/recipient mixed chimerism does not predict graft failure in children with beta-thalassemia given an allogeneic cord blood transplant from an HLA-identical sibling. *Haematologica* 2008;93:1859-67.

Locatelli F, Rocha V, Reed W, et al .Related umbilical cord blood transplantation in patients with thalassemiaand sickle cell disease for the Eurocord Transplant Group. *Blood* 2003;101; 2137-2143.

Lucarelli F, Galimberti M, Polchi P, et al. Bone marrow transplantation in patients with thalassemia. *N Engl J Med* 1990;322:417-21.

Lucarelli G, CliftR A, Galimberti M, et al. Bone marrow Transplantation in adult thalassemic patients. *Blood* 1999;93:1164-1167.

Lucarelli G and Gaziev J. Advances in the allogeneic transplantation for thalassemia. *Blood Reviews*, 2008;22:53-63.

Mariotti E, Angelucci E, Agostini A, Baronciani D, Sgarbi E, Lucarelli G. Evaluation of cardiac status in iron-loaded thalassemia patients following bone marrow transplantation: improvement in cardiac function during reduction in iron burden. *Br J Haematol*. 1998;103:916-921.

Mathews V, George B, Lakshmi KM, et al. Impact of pretransplant splenectomy on patients with  $\beta$ -thalassemia major undergoing a matched-related allogeneic stem cell transplantation. *Pediatr Transplantation* 2009;103:171-176.

Michel G, Valteau-Couanet D, Gentet JC et al. Weight-based strategy of dose administration in children using intravenous busulfan : clinical and pharmacokinetic results. *Pediatr Blood cancer*, 2011, published online.

Modell B, Khan M, Darlison M. Survival in  $\beta$ -thalassemia major in the UK thalassemia register. *The Lancet* 2000;355:2051-2052.

Modell B, Khan M, Darlison M, et al. Improved survival of thalassaemia major in the UK and relation to T2\* cardiovascular magnetic resonance. *J Cardiovasc Magn Reson* 2008;10:42.

Olivieri NF, Brittenham GM, McLaren C, et al. Long-term safety and effectiveness of iron-chelation therapy with deferiprone for thalassemia major. *N Engl J Med*. 1998;339:417-423.

Olivieri N, Nathan D, MacMillan J, et al. Survival in medically treated patients with homozygous  $\beta$ -thalassemia. *N Engl J Med* 1994;331:574-578.

Poonkuzhali B, Chandy M, Srivastava A et al. Glutathione S-transferase influences busulfan pharmacokinetics in patients with beta thalassemia major undergoing bone marrow transplantation. *Drug Metab Dispos* 2001;29: 264-267.

Protocole national de diagnostic et de soins pour une maladie rare (PNDS), Juin 2008 : Syndromes thalassémiques majeurs et intermédiaires <http://www.has-sante.fr>

Ramzi M, Nourani H, Zakerinia M, et al. Results of hematopoietic stem cell transplant in Shiraz : 15 years' experience in Southern Iran. *Exp Clin Transplant* 2010;8:61-65.

Rocha V, Wagner JE Jr, Sobocinski KA, et al. Graft-versus-host disease in children who have received a cord-blood or bone marrow transplant from an HLA-identical sibling. Eurocord and International Bone Marrow Transplant Registry Working Committee on Alternative Donor and Stem Cell Sources. *N Engl J Med*. 2000;342:1846-54.

Ruggeri A, Eapen M, scaravadou A, et al. Umbilical cord blood transplantation for children with Thalassemia and sickle cell disease.; *biol Blood Marrow Transplant* 2011 sept;17(9):1375-82

Sabloff M, Chandy M, Wang Z, et al .HLA-matched sibling bone marrow transplantation for thalassemia major. *Blood* 2011;117:1745-1750.

Sharma V, Kumar B, Saxena R. Glutathione S-transferase gene deletions and their effect on iron status in HbE/beta thalassemia patients. *Ann Hematol* 2010;89:411-414.

Singer ST, Kuypers FA, Olivieri NF, et al. Fetal haemoglobin augmentation in E/Beta0 thalassemia : clinical and haematological outcome. *Br J Haematol* 2005;131:378-388.

Singer TA, Vichinsky EP, Sweeters N, et al. Darbopoetin alfa for the treatment of anaemia in alpha-or beta-thalassaemia intermedia syndromes. *Br J Haematol* 2011,jul;154 (2): 281-4

Sodani P, Gaziev D, Polchi P, et al. New approach for bone marrow transplantation in patients with class III thalassemia aged younger than 17 years. *Blood* 1994;104:1201-1203.

Stepensky P, Reuven O, Shapira MY, et al. Second bone marrow transplantation for patients with thalassemia: risks and benefits. *Haematologica* 2009;94:1329-1330

Taher AT, Musallam KM, Karimi M, et al. Overview on practices in thalassemia intermedia management aiming for lowering complication rates across a region of endemicity: the optimal care Study. *Blood* 2010;115:1886-1892.

Tanner MA, Galanello R, Dessi C, et al. A randomized, placebo-control, double-blind trial of the effect of combined therapy with deferoxamine and deferiprone on myocardial iron in thalassemia major using cardiovascular magnetic resonance. *Circulation* 2007;115:1876-84.

Telfer PT, Warburton F, Christou S, et al. Improved survival in thalassemia major patients on switching from desferrioxamine to combined chelation therapy with desferrioxamine and deferiprone. *Haematologica* 2009;94:1777-8.

Thuret I, Pondarré C, Loundou A, et al. Complications of patients with  $\beta$ -thalassemia in France: results of the National Registry. *Haematologica* 2010;95:724-29.

Traeger-Synodinos J, Kanavakis E, Vrettou C, et al. The triplicated alpha-globin gene locus in beta-thalassemia heterozygotes: clinical, haematological, biosynthetic and molecular studies. *Br J Haematol* 1996;95:467-471.

Unal S, Kuskonmaz B, Hazirolan T, et al. Deferasirox use after hematopoietic stem cell transplantation in pediatric patients with beta-thalassemia major: preliminary results. *Pediatr Hematol Oncol*. 2010 Sep;27(6):482-9

Vassal G, Michel G, Espérou H, et al. Prospective validation of a novel IV busulfan fixed dosing for paediatric patients to improve therapeutic AUC targeting without drug monitoring. *Cancer Chemother Pharmacol* 2008;61:113-123.

Vlachopapadopoulou E, Kitra V, Peristeri J, et al. Gonadal function of young patients with beta-thalassemia following bone marrow transplantation. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2005; 18:477-83.

Walters MC, Quirolo L, Trachtenberg et al. Sibling donor cord blood transplantation for thalassemia major: Experience of the Sibling Donor Cord Blood Program. *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1054: 206-13.

Zwavelling J, Press RR, Bredius RG et al. Glutathion-S-transferase polymorphisms are not associated with population pharmacokinetic parameters of busulfan in pediatric patients. *Ther Drug Monit* 2008;30:504-510.