

# HEMAPHERESE THERAPEUTIQUE


Docteur Nicole Coudurier

Etablissement Français du sang  
Rhône-Alpes  
France

## Hémaphèrese thérapeutique

Docteur Nicole Coudurier  
Établissement Français du sang  
Rhône-Alpes  
France

1



### INDICATIONS

Affections liées à des Anticorps ou à un facteur plasmatique	➔	<ul style="list-style-type: none"> <li>Échanges plasmatiques</li> <li>Immunoabsorption sur protéine-A</li> </ul>
Affections liées à des lymphocytes pathogènes (allo ou autoréactifs)	➔	Photochimiothérapie Extracorporelle : PCE
Maladies des GR (drépanocytose)	➔	Échanges érythrocytaires
Hypercholestérolémies Familiales (LDL-C)	➔	LDL - Aphérese
Auto ou allogreffes hématopoïétiques	➔	<ul style="list-style-type: none"> <li>Collecte CSP autologues ou allogéniques</li> <li>Collecte lymphocytes</li> </ul>

2

### Échanges plasmatiques

450 EP/ an à Lyon (50 patients)  
dont 60 EP en réanimation

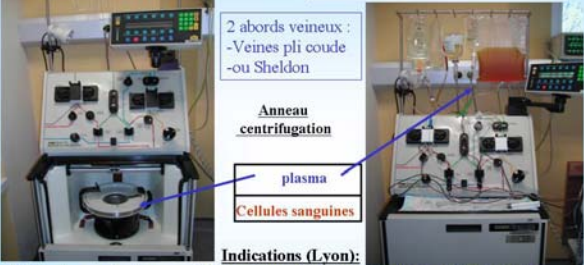
2 abordos veineux :  
- Veines pli coude  
- ou Sheldon

**Anneau centrifugation**

plasma  
Cellules sanguines

**Indications (Lyon):**

- Ajouter un facteur ➔ Microangiopathies thrombotiques (SHU, PTT) manquant
- Excès d'auto AC ➔ Myasthénie, Guillain Barré, Polynévrites Chroniques, rejet aigu greffe rein
- Enlever un facteur ➔ Hyalinose segmentaire et focale, .... inflammatoire





3

**Substituant :**


- Albumine 4% (+/- macromolécules ou albumine 20%) (maladies autoimmunes)
- Plasma frais congelé (microangiopathies)

Plasma à jeter (contenant les autoAc)  
Quantité traitée : 1,5 masses plasmatiques






Séparation par centrifugation



**Technique en flux continu:**

- 2 voies d'abord de bon calibre
- pli du coude ou sheldon double voie
- même débit d'entrée et de sortie (même quantité)
- anticoagulant : ACD-A (complexe avec Calcium)
- réglages vitesse prélèvement, Taux ACD-A, vitesse centrifugation...
- patient surveillé, scope, TA, signes d'hypocalcémie...





### Physiopathologie du syndrome Guillain Barré et de la myasthénie

- Maladies autoimmunes
- Immunité humorale dans Guillain Barre
  - IgM réagissant avec la myéline
  - Augmentation taux d'AC corrélé avec aggravation des signes moteurs
  - 30% Ac anti GM1
- Immunité humorale dans Myasthénie
  - Ac anti-récepteur de l'Ach

6

### Traitement et prise en charge du syndrome Guillain-Barre

- Surveillance, fonction respiratoire...
  - Corticoïdes inefficaces
  - Ig IV (tegeline)
- Place des Echanges plasmatiques
- Différentes études ont comparé EP et Ig IV
    - Ig IV: 55% réponse vs 34% EP
    - Temps avant réponse fonctionnelle 27 j Ig IV vs 41 j EP
    - étude internationale, multicentrique, randomisée (1997): pas de différence entre *Ig IV, EP et EP+Ig IV*

7

### Myasthénie et échanges plasmatiques



- Traitements
  - inhibiteurs de la cholinestérase
  - IV Ig
  - corticoïdes ou immunosuppresseurs
- Indications des échanges plasmatiques
  - crises aiguës sévères pour éviter intubation ou réanimation
  - Avant thymectomie
  - en cas de résistance aux traitements

8

### Immunoabsorption sur protéine A



Séparation primaire

Sang total → Éléments figurés / plasma

2 machines à régler et à surveiller

Citem 10 (Frésénus): IA

9

### Immunoabsorption sur protéine A



1 colonne fixe les IgG    Pendant que l'autre est rincée

Solution Eluante : Ph 2.2

10

Affections liées à des Anticorps ou à un facteur plasmatique	➔	Échanges plasmatiques Immunoabsorption sur protéine-A
Affections liées à des lymphocytes pathogènes (allo ou autoréactifs)	➔	Photochimiothérapie Extracorporelle : PCE
Maladies des GR (drépanocytose)	➔	Échanges érythrocytaires
Hypercholestérolémies Familiales (LDL-C)	➔	LDL - Aphérèse
Auto ou allogreffes hématopoïétiques	➔	Collecte CSP autologues ou allogéniques Collecte lymphocytes

EFS logo

11

### PHOTOCHIMIOTHERAPIE EXTRACORPORELLE Aspects Techniques



- Technique d'aphérèse
- But : agir sur les lymphocytes T
- Immunothérapie
- GVHD
- Rejet de greffe d'organes
- Maladies inflammatoires

12

### Photochimiothérapie extracorporelle: PCE

- Collection de cellules mononucléées sanguines
- Exposition UV A en présence d'un agent photoactivant : 08 MOP
- Réinjection des cellules traitées au patient  
Les globules blancs photoactivés sont réinjectés au patient

Photoactivation avec UVA  
08 MOP : UVADEX

Globules blancs sanguins sont collectés

Le sang est séparé par centrifugation et les globules rouges sont réinjectés

#### Technique en 1 temps

#### Apherèse par Thérakos (UVAR XTS)

Plasma  
Buffy Coat  
GR

#### Technique en 2 temps

#### Apherèse par Vilber- Lourmat

Anneau centrifugation

plasma
plaquettes
Lympho mono
PNN
GR

Irradiation UV A

### ISOLATION DE LA COUCHE LEUCOCYTAIRE

Plasma  
CGR

Lymphocytes  
LB LT

Couche leucocytaire

Granulocytes

Monocytes

Le bol Haemonetics® Latham

Couche leucocytaire  
Couche de plasma  
Couche de globules rouges

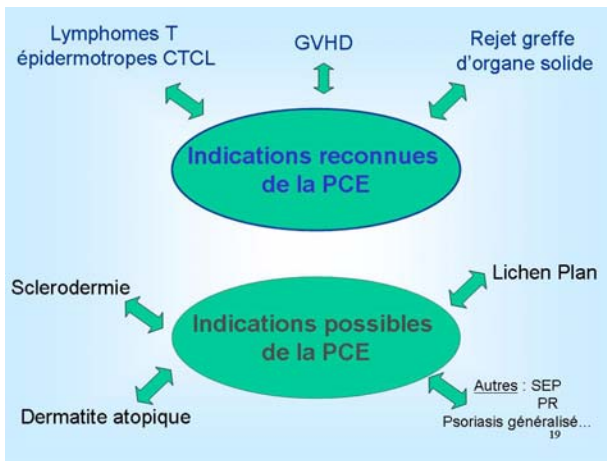
### CIRCUIT (Thérakos)

### CRITERES DE SELECTION

- Poids minimum de 40 Kg
- Voies d'abord correctes
- Hématocrite > 28% et plaquettes > 30 000
- Arrêt de tout traitement pouvant changer la couleur du plasma
- Arrêt de l'alimentation parentérale
- Résultats de sérologie de moins d'un an

### Photochimiothérapie extracorporelle : PCE

- Indications
- Mécanismes d'action



### PCE & LMNH T épidermotropes (CTCL)

Étude	Atteinte	Réponse globale	RC
Edelson 1987	Total 37 Erythro 29	76 % 83 %	24 %
Head 1989	Total 32 Erythro 22	86 % 29 %	23 %
Duvic 1996	Total 34 Erythro 28	50 %	18 %
Zic 1996	Total 20 Erythro 3	50 %	25 %
Gottlieb 1996	Total 28	71 %	25 %
Prinz 1995	Total 37 Erythro 3	70 %	0 %
Russel- Jones 1997	Total 19	53 %	16 %
Crovetti 2000	Total 30 Erythro 9	73 % 66 %	33 % 33 %

**Facteurs associés à une réponse:**  
 -< 2 ans / diagnostic (Edelson 1987)  
 -Cellules Sézary sang  
 -Taux CD8+ élevé (->15%) (Berger 1990)  
 - pas d'immunodépression (Edelson 1987)  
 - Absence de traitement antérieur par chimiothérapie intensive (Berger 1996)  
 - Absence d'adénopathies volumineuses (Knobler 2001)

**Survie moyenne : 60 mois** (Edelson 1987) (vs 24 mois)

### PCE dans cGvHD : en résumé

En Janvier 2006, il y a 25 études publiées sur la PCE comme traitement de cGVHD:  
 N = 330 patients avec cGvHD extensive

Tous les patients étaient en échec de traitement par prednisone et CSA ou FK506. Certains patients étaient en échec de traitement supplémentaire comme MMF.

**Le nombre moyen total de séances de PCE / patient est approximativement de 30.**

Généralement, si aucune amélioration n'est observée au bout de 3-6 mois (20 séances), le traitement par PCE est arrêté.

**Ces études montrent les taux de réponses suivants à la PCE:**

Peau : 136/200 patients (68%)  
 Muqueuse : 43/63 patients (68%)  
 Foie : 62/116 (53%)  
 Réduction corticostéroïdes or immunosuppresseurs : 119/174 (68%)

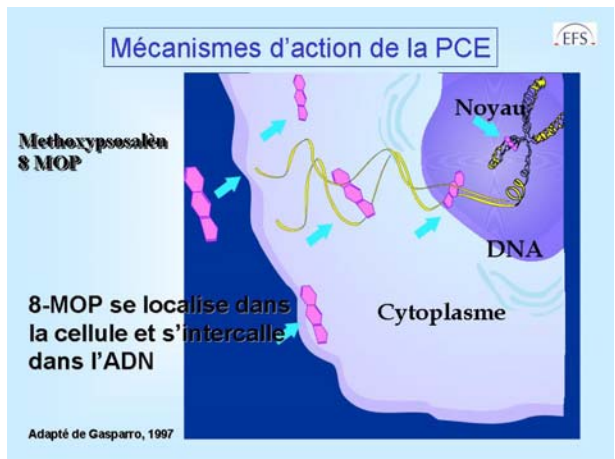
### PCE et sclérodémie

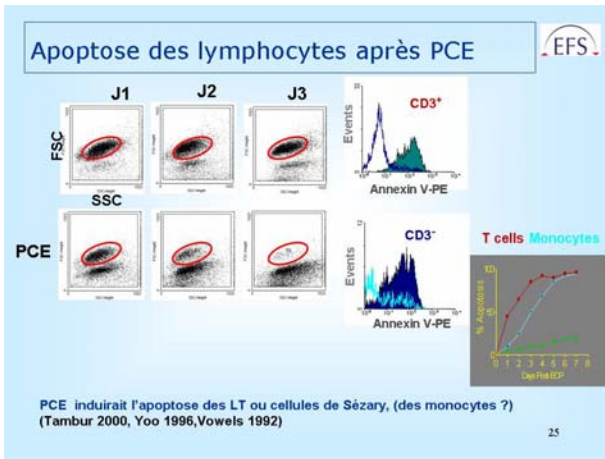
- **1989 Rook** : 2 patients
- **1992 Rook** : 80 patients - étude randomisée
  - D pénicillamine amélioration **8/25** patients score cutané (6 mois)
  - PCE 2 séances/mois 6 mois **21/31** (p= 0,02)
- **2006 Knobler** : sclérodémie < 2 ans 64 pts
  - Pas de traitement associé
  - Active PCE vs sham PCE
  - Évaluation mensuelle (score peau – articulations)
  - À 6 mois, diminution du score dans le groupe PCE : 3,2 (p=0,024) vs 0,1 (groupe Sham)
  - À 12 mois, diminution du score dans le groupe PCE : 5,6 (p=0,08) vs 2 (groupe Sham)
  - 11 articulations améliorées (PCE 6 mis) vs 6 (Sham)

### PCE et dermatite atopique

- **Prinz 1994**  
 3 patients longue histoire de DA  
 2 séances PCE /mois (après 12 cycles: 2 séances /6 semaines). 6 à 14 cycles  
 Score: 380 → 50
- **Prinz 1999**  
 14 patients 2 séances PCE /15 jours (minimum: 6 cycles)  
 10 Réponses dont 4 RC et 4 échecs  
 7/10 répondeurs : diminution des IgE  
 4 non répondeurs : augmentation des IgE
- **Redanhausen 2003**  
 10 patients PCE : 2 jours consécutifs
  - SCORAD initial et avant 11ème séance
  - 87,3 +/- 9 puis 35 +/-12
  - Diminution sIL-2R (1843 puis 775 pg/ml)
  - Diminution sE-selectin (84 puis 32 ng/ml)

Score (x % surface corporelle):  
 0: pas lésions  
 1: érythème minime  
 2: érythème  
 3: érythème max, plaques, excoriations  
 4: érythème max, Vesicules, exsudations





### Recherche développée EFS-RA

J Plumas – Grenoble (EFS)  
O Hequet - Lyon (EFS - Inserm u503)

- 1) Joël Plumas – EFS Grenoble
  - caractéristiques de l'apoptose
  - impact de la PCE sur la production de cytokines
  - impact de la PCE sur les molécules impliquées dans la synapse immunologique
- 2) Olivier Hequet – Jean François Nicolas (EFS Lyon – Inserm U 503) :
  - induction de tolérance dans un modèle murin d'HSR
- 3) A l'EFS Lyon et Grenoble:
  - immunomonitoring des patients traités par PCE

### PCE : Conclusions

- PCE : certaines indications sont connues et bien décrites
- Nécessité d'études randomisées pour les indications moins évidentes
- Nécessité d'étudier les mécanismes d'action de la PCE pour :
  - rechercher des marqueurs biologiques d'efficacité
  - dépister les patients répondeurs
  - améliorer les indications

Affections liées à des Anticorps ou à un facteur plasmatique	➔	Échanges plasmatiques Immunoadsorption sur protéine-A
Affections liées à des lymphocytes pathogènes (allo ou autoréactifs)	➔	Photochimiothérapie Extracorporelle : PCE
Maladies des GR (drépanocytose)	➔	Échanges érythrocytaires
Hypercholestérolémies Familiales (LDL-C)	➔	LDL - Aphérèse
Auto ou allogreffes hématopoïétiques	➔	Collecte CSP autologues ou allogéniques Collecte lymphocytes

### Objectifs des échanges érythrocytaires (EE) dans la drépanocytose

- Baisser efficacement le taux d'HbS
- Remplacer les GR HbS + par des GR normaux
- Eviter l'hyper viscosité
- Corriger l'anémie
- Limiter la surcharge ferrique

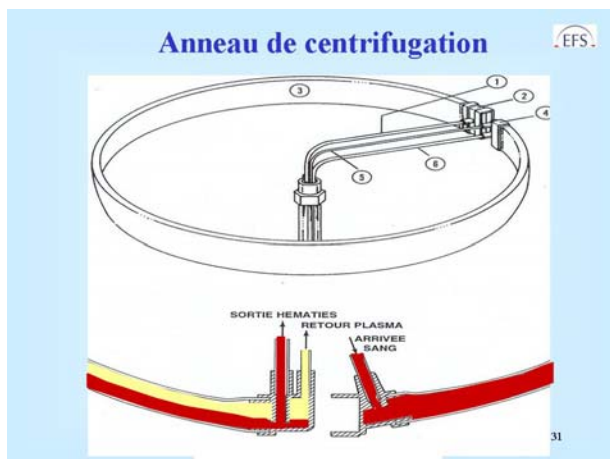
#### Indication des EE

- Urgence: syndrome thoracique aigu, priapisme, crise vasoocclusive résistante
- Prevention: - éviter les crises fréquentes (adultes et enfants)
- prévenir la récurrence d'AVC (enfants)
- grossesse : éviter complications (fœtus, mère)

### Erythraphère (EE) sur séparateur cellulaire Cobe Spectra

**Anneau centrifugation**

Plasma
Plaquettes
Lympho Mono et CD34
PMN
Globules rouges

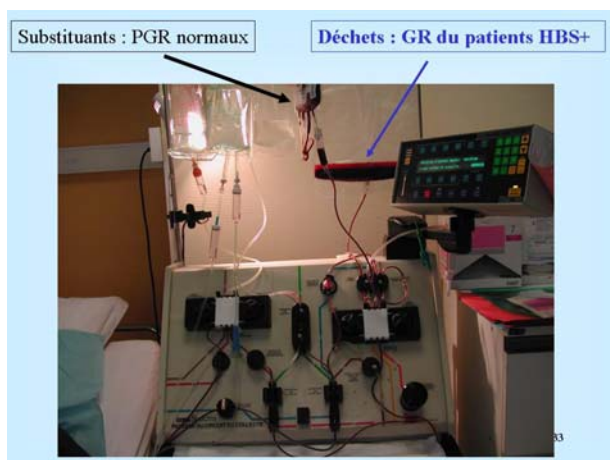


### Paramètres à saisir dans le logiciel

- Sexe – Poids – Taille → volume sanguin circulant
- Hématocrite de départ
- Hématocrite final souhaité (choix du médecin)
- Hématocrite des fluides de remplacement (actuellement 56%)
- Balance des fluides (en général : 100%)
- Fraction cellules restantes : (20% à Lyon) (ou à calculer en fonction des objectifs)

Volume à échanger

32



Comme pour l'EP →

Technique en flux continu:

- 2 voies d'abord de bon calibre
- pli du coude ou sheldon double voie
- même débit d'entrée et de sortie (même quantité)
- anticoagulant : ACD-A (complexe avec Calcium)
- réglages vitesse prélèvement, Taux ACD-A, vitesse centrifugation...
- patient surveillé, scope, TA, signes d'hypocalcémie...

34

### En pratique

EFS

- Examens :
  - RAI (moins de 3 jours)
  - NFP avant et après EE
  - Dosage d'Hb S avant et après EE
- Sélection des CGR :
  - Phénotypés (Rhesus-Kell)
  - Compatibilisés chez l'enfant ou si RAI +
  - Contrôle pré-transfusionnel au chevet du patient
  - Traçabilité qui répond aux exigences de l'hémovigilance

35

### Surveillance et Effets secondaires

EFS

- Voies d'abord
- Hypocalcémie
- Hypotension

### Complications

- Accident transfusionnel pendant et après l'échange érythrocytaire

36

**EE : Conclusions**

Les techniques d'échange sur séparateur donnent des résultats cliniques indiscutables (disparition douleurs, absence récides d'AVC) et de bons résultats sur le bilan biologique (Hte et Hb S)

L'échange transfusionnel à long terme permet :

- une diminution contrôlée du taux d'Hb S,
- de limiter la surcharge en fer,
- d'apporter aux patients un confort de vie notable avec l'espoir d'une diminution des complications

37

Affections liées à des Anticorps ou à un facteur plasmatique → Échanges plasmatiques  
Immunoabsorption sur protéine-A

Affections liées à des lymphocytes pathogènes (allo ou autoréactifs) → Photochimiothérapie Extracorporelle : PCE

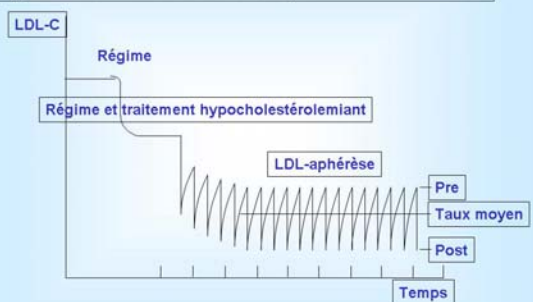
Maladies des GR (drépanocytose) → Échanges érythrocytaires

Hypercholestérolémies Familiales (LDL-C) → LDL - Aphérèse

Auto ou allogreffes hématopoïétiques → Collecte CSP autologues ou allogéniques  
Collecte lymphocytes

38

Chez les patients atteints d'hypercholestérolémies Sévères (IIa :LDL-C), un régime et un traitement hypocholestérolémiant ne suffisent pas



39

**Différentes techniques de LDL-aphérèse**

- Échanges plasmatiques (peu efficaces)
- Technique HELP : Précipitation du LDL-C sur héparine (non utilisé en Europe)
- Épuration sur colonnes de sulfate de dextran (Kaneka) ou de gel de polyacrylate (Dali) (plus utilisé en Europe)

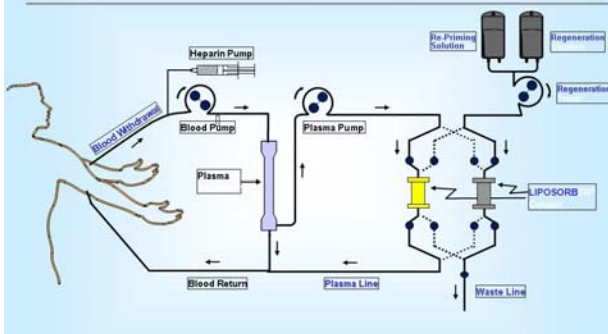


Interaction entre APO-B + LDL-C (chargées +) et billes (chargées -)

Technique LDL-sang total

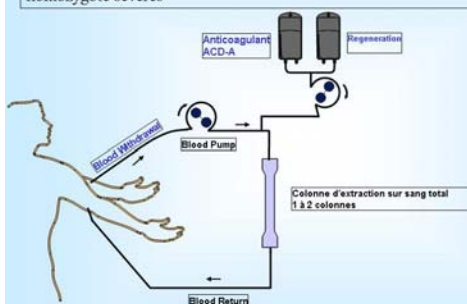


**Technique LDL-plasma (Kaneka):** séparation primaire du plasma avant extraction du LDL-C



41

**Technique LDL-sang total :**  
- pas de séparation primaire du plasma avant extraction du LDL-C  
-risque de saturation des colonnes (moins utilisé quand hypercholestérolémies homozygote sévères)



42

EFS

## Les séances de LDL-Aphérèse

### Traitements anticoagulants - techniques

**Technique Kaneka ou Dali « Sang total »**

- Héparine (rinçage) : 5000 UI puis ACD ( 2,5 à 4 %)(protocole officiel)
- Quantité traitée: 1.6 masses sanguines + 1 L
- Indications :**
  - HF hétérozygotes
  - HF avec intolérance aux statines

**Technique Kaneka « plasma »**

- Héparine (rinçage) : 5000 UI puis au PS : 20 000 UI (2,5 à 0,5 ml/h) (protocole officiel)
- Quantité traitée: 2 masses plasmatiques
- Indications :**
  - HF homozygotes
  - HF hétérozygotes sévères
  - HF double hétérozygote

Plus efficaces mais plus contraignantes

EFS

Affections liées à des Anticorps ou à un facteur plasmatique → Échanges plasmatiques  
Immunoabsorption sur protéine-A

Affections liées à des lymphocytes pathogènes (allo ou autoréactifs) → Photochimiothérapie Extracorporelle : PCE

Maladies des GR (drépanocytose) → Échanges érythrocytaires

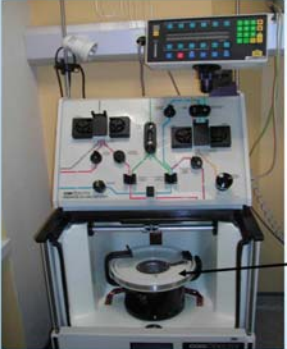
Hypercholestérolémies Familiales (LDL-C) → LDL - Aphérèse

Auto ou allogreffes hématopoïétiques → Collecte CSP autologues ou allogéniques  
Collecte lymphocytes

44

EFS

### Prélèvement



**Anneau centrifugation**


Plasma
Plaquettes
Lympho Mono et CD34 PNN
Globules rouges

45

EFS

Pas de substituant  
Collecte d'une quantité de 200 ml (lympho, mono et CD34+)  
Autogreffé et allogreffé

**Comme pour l'EP ou EH**



Technique en flux continu:  
- 2 voies d'abord de bon calibre  
- pli du coude ou sheldon double voie  
- même débit d'entrée et de sortie (même quantité)  
- anticoagulant : ACD-A (complexe avec Calcium)  
- réglages vitesse prélèvement, Taux ACD-A, vitesse centrifugation...  
- patient surveillé, scope, TA, signes d'hypocalcémie...

46

EFS

**Collecte après chimiothérapie** → Autogreffes

Chimio Chimio  
GB normaux  
G-CSF G-CSF  
Dosage CD34+ sang périphérique  
Si CD34+ > 10 ou 20/mm<sup>3</sup>  
Cytaphérèse le jour même

**Collecte sans chimiothérapie : collecte à l'état basal**

GB normaux  
G-CSF  
Dosage CD34+ sang périphérique  
Si CD34+ > 10 ou 20/mm<sup>3</sup>  
Cytaphérèse le jour même

Autogreffes  
Allogreffes

**G-CSF:**  
Neupogen<sup>®</sup>  
Granocyte<sup>®</sup>  
Injection SC  
5 µg/kg/j  
Matin et soir

### Facteurs limitant la mobilisation des cellules souches hématopoïétiques périphériques (pour les autogreffes)

- Diagnostic de LMNH (> myélome)
- Radiothérapie du squelette
- Traitement prolongé par certaines chimiothérapies
- Dose cumulée élevée d'endoxan
- Traitement antérieur par fludarabine
- Nombre élevé de cures de chimiothérapie
- Age (> 50 ans)
- Envahissement médullaire initial

48



<u>COMPLICATIONS</u>	<u>SURVEILLANCE</u>
• Hypocalcémie	→ • Injection de calcium
• Hypotension (rare)	→ • Surveillance des constantes
• Problèmes abord veineux	→ • Évaluation de l'état veineux et phlébotomie efficace
• Risques infectieux	→ • Asepsie rigoureuse

**Importance de la rigueur de la traçabilité**

49

Exemple de l'autogreffe

<u>DEVENIR DU PRODUIT</u>	<u>DEVENIR DU PATIENT</u>
Banque de Tissus et Cellules	3 semaines environ de repos
↓	↓
Numération du produit	Chimiothérapie et / ou Irradiation corporelle
↓	↓
Congélation	Grefe
↓	↓
Décongélation à la demande du prescripteur	Attente de la sortie d'aplasie (15 à 21 jours)

50

## Conclusions

- Aphérèse : but thérapeutique
- Aphérèse: prélèvement CSP
- Indications bien connues
- Prise en charge du patient et prise en charge technique
- Nécessité d'étude complémentaire (immunologie pour la PCE)
- Nécessité d'études randomisées (comparer les différentes techniques ou aphérèse par rapport à traitement médicamenteux)

51