

Diarrhées après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques

Journées AIH 2012

Marie ROBIN
Hôpital Saint-Louis
Paris

Clinique



- Ne pas passer à côté d'une GVHD
- Ne pas traiter à tort une GVHD

J0
SCT

J15

J30

J45

J60

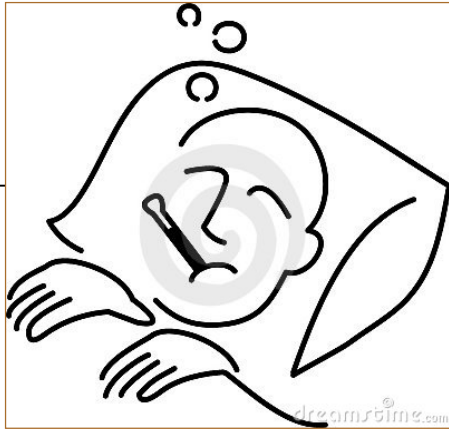
J75.....J200.....J700

Causes infectieuses

Conditionnement
Radiothérapie
AB - décontamination

GVHD

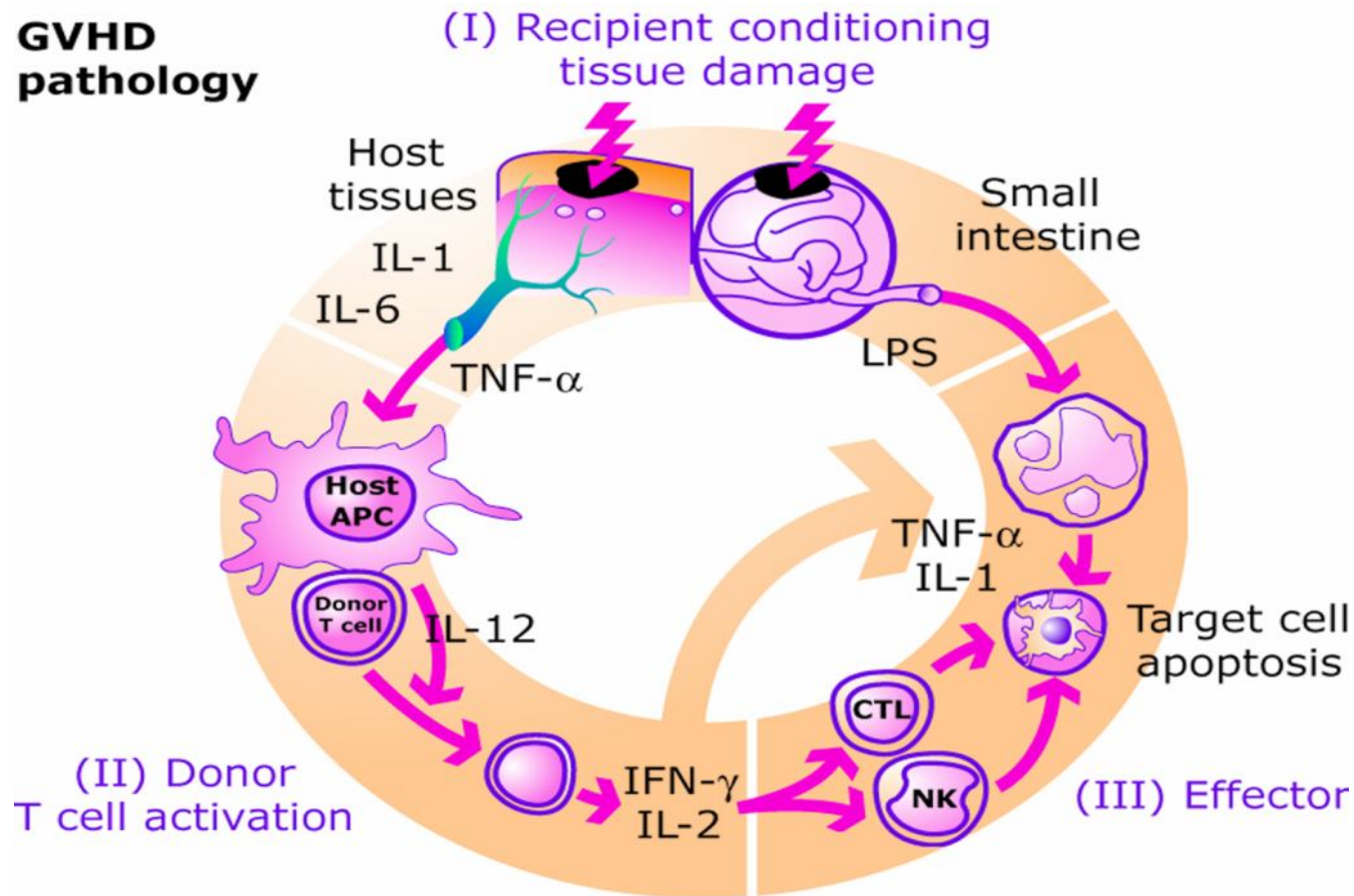
Clinique



- Aucune spécificité clinique++ mais association a une atteinte multi-organe très évocateur
- Contexte: immunosuppression; période post allo
- Interaction troubles digestifs toxiques ⇔ GVHD digestive (Goldberg BMT 2005. Liu. BBMT 2010)
 - Diagnostic positif: biopsie mais faux négatifs possibles
 - Diagnostic après élimination des autres causes (infectieux++)

Un faisceau d'argument clinico-biologique finit par remporter le diagnostic de GVHD dans plus de 85% des cas après J15

Interaction diarrhée non GVHD (toxicité, infection) et diarrhée de GVHD



James Ferrara

Diagnostic: analyse des selles

Coprologie standard (patient à risque, retour du domicile)

Recherche de C Difficile:

- Incidence à 1 an # 10%; 50% le premier mois (Alonso. CID 2012. Willems BMT 2012)
- Diarrhée sévère # 5%(Willems BMT 2012)
- Facteurs de risque :
 - Antiothérapie large spectre
 - TBI
 - Greffe de SP
 - aGVHD
- CD ⇔ GVHD (oui: Dubberke Clin Transplant 2010, Alonso CID 2012)
- Pas d'impact sur la mortalité à court ou long terme (Willems BMT 2012)

Diagnostic: analyse des selles

Virologie des selles:

- Rotavirus,
- Adénovirus, cf diapo suivante
- Enterovirus,
- Norovirus: cause de diarrhée chronique, surinfectant des GVHD digestive retrouvé chez des patients avec déficit immunitaire et GVHD, mortalité élevée (Roddie CID 2009)

Parasitologie des selles:

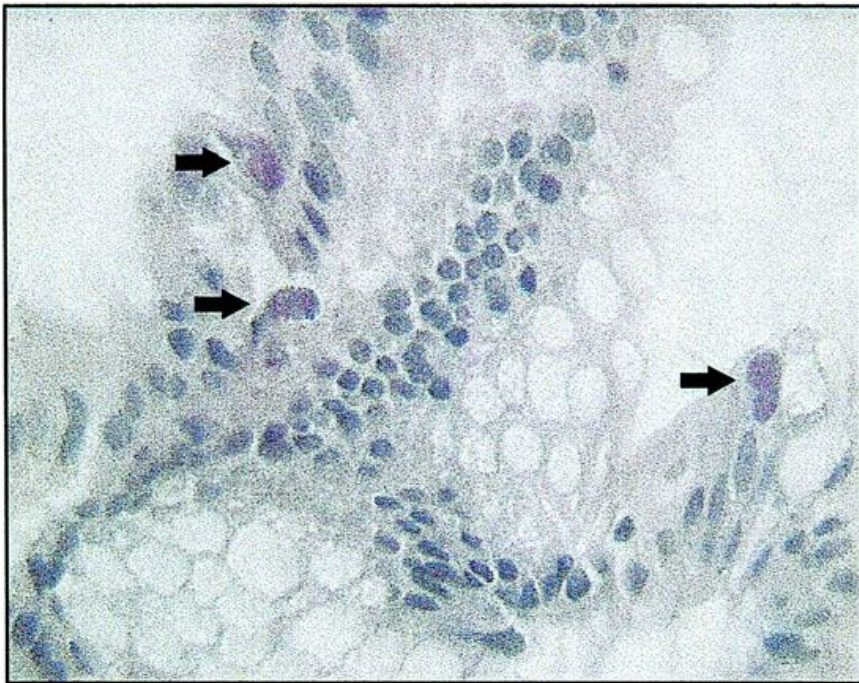
- Giardia,
- Cryptosporidie

Mycologie ?

PCR ADV quantitative dans les selles

- Peu de données sur la significativité
- Très sensible+++
- Une positivité prolongée n'est pas un critère diagnostic
- Plusieurs sites atteints++ en faveur d'une maladie à adenovirus (Howard CID 1999, Baldwin BMT 2000, Flomenberg 1994, Lion 2003), pas toujours (Chakrabarti 2002).
- > 1M = prédictif de virémie et de maladie disséminée (Lion EBMT 2005)

Diagnostic histologique



Cellules épithéliales avec
inclusions intranucléaire
éosino



IF ac anti-adenovirus

Adénovirus dans les selles et maladie à adénovirus

	Sites*: selles, urine, Respi	Histologie	Signes
Infection	Pos	neg	Non
Maladie localisée	Pos	Pos**	oui 1 organe
Maladie disséminée	Pos	Pos**	oui > 1 organe

*Culture, DNA, IF, **: histo non faire = maladie probable

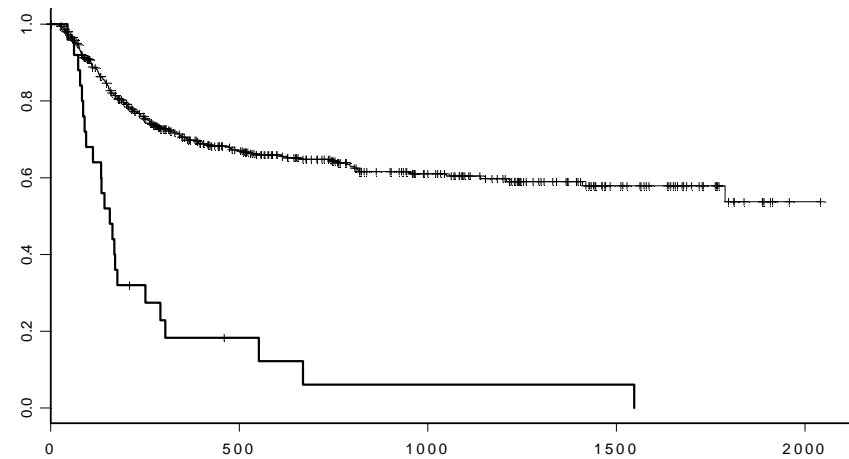
Flomenberg JID 1994. Eschevarria Lancet 2001, Lion Blood 2003, Lerruez-Ville CID 2004

Cidofovir

- Analogue de cytosine, inhibe l'ADN polymérase
- Actif in vitro contre tous les sérotypes d'adenovirus
- Réponse de 50 à 98%
- Diminution de la PCR quantitative sous traitement
- Rechute à l'arrêt du traitement
- Pas d'essai randomisé
- Nephro et hématotoxique

Pronostic des maladies à adénovirus

- Variable selon les séries+++ et les définitions: 0 à 50% de mortalité
- DC lié à:
 - Hépatite fulminante
 - Pneumonie
 - Hémorragie digestive



Robin. Haematologica 2007

Causes rares ou controversées des troubles digestifs post greffe

1. gastroparésie (nausées++; + 2 mois)
2. enterocolite du neutropénique
3. « Colite du cordon »
4. Microangiopathie digestive

Méthodes diagnostiques et pronostiques de la GVHD digestive

Diagnostic clinique

Acute GvHD of the G - I tract

Lower G - I tract involvement

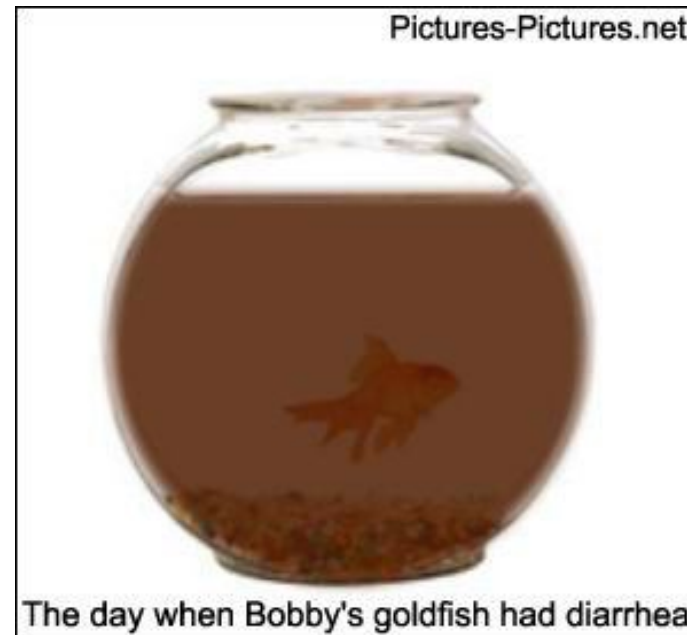
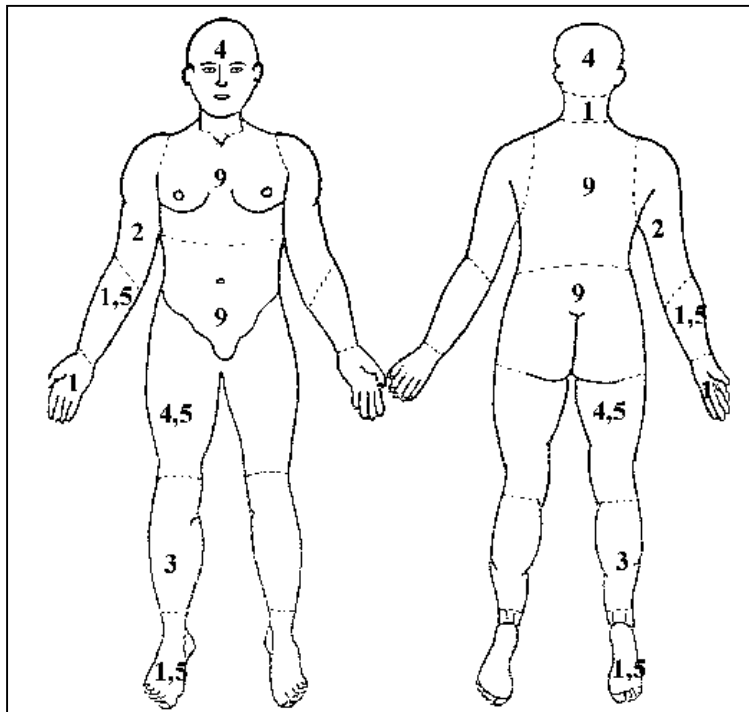
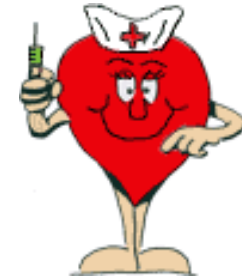
Stage	Diarrhea : Volume / Day
+	> 500 ml
++	> 1000 ml
+++	> 1500 ml
++++	Severe abdominal pain With or without ileus

Acute GvHD; clinical issues

➤ Assess disease severity

Practical problems with grading:

- Skin; use body surface area figures
- Liver; only need to measure bilirubin level
- GI; practical problem ++ (mix stools & urines !)



Clinical Stage of acute Graft - vs- Host Disease

Stage	skin	Liver Bilirubin	Intestinal diarrhea/D
+	< 25% of body surface	34-50 $\mu\text{mol/L}$	>500 ml
++	25-50% body surface	51-102 $\mu\text{mol/L}$	>1000 ml
+++	generalized erythroderma	103-255 $\mu\text{mol/L}$	>1500 ml
++++	generalized erythroderma with bullous formation & desquamation	>255 $\mu\text{mol/L}$	severe abdominal pain with or w.o. ileus

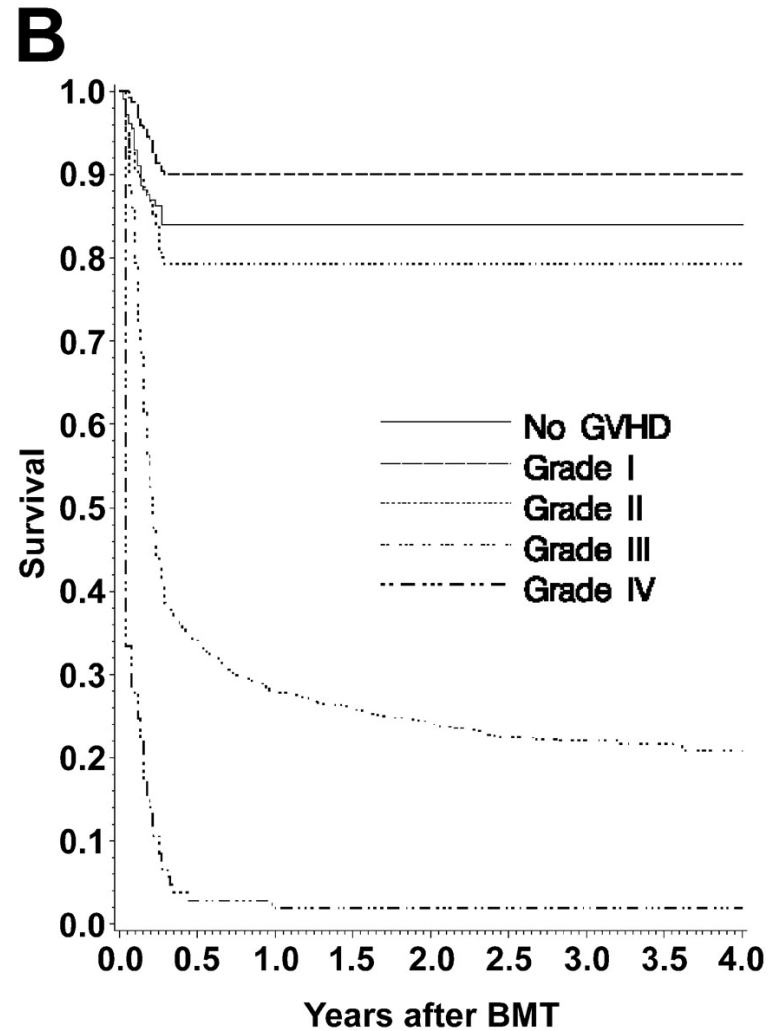
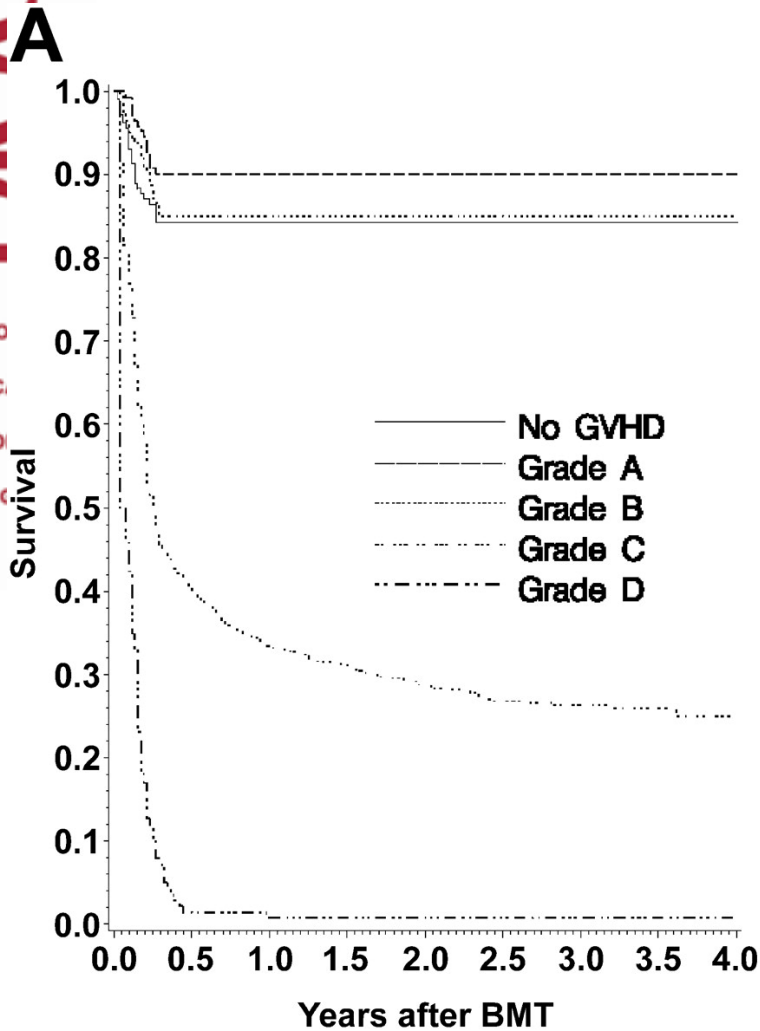
Clinical Grading of acute Graft - vs- Host Disease

Grade	Degree of organ involvement
I	+ to ++ skin rash; no gut nor liver involvement; no decrease in clinical performance
II	+ to +++ skin rash; + gut or liver involvement (or both); mild decrease in clinical performance
III	++ to +++ skin rash; ++ to +++ gut or liver involvement (or both); marked decrease in clinical performance
IV	similar to grade III & extreme decrease in clinical performance

Probability of survival according to maximum GVHD score.

Blood

JOURNAL OF
THE AMERICAN
SOCIETY OF
HEMATOLOGY



Cahn J et al. Blood 2005;106:1495-1500

La réponse au traitement est le critère pronostic majeur....

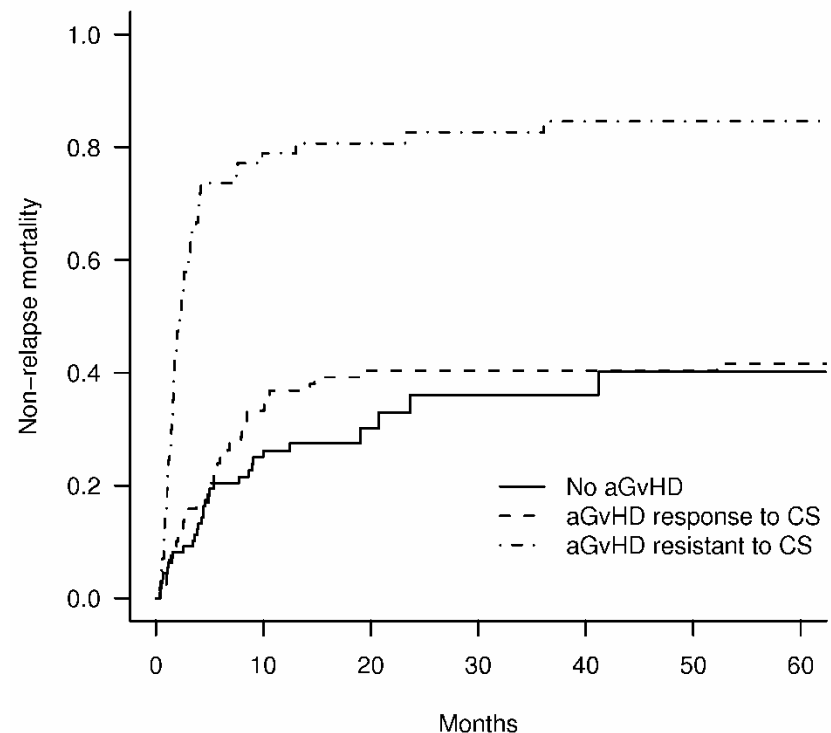
Traitement de première intention: Methylprednisolone = 2mg/kg/d.

Taux de réponse entre 25 et 45%

Echec:

- Progression à 3 jours, ou
- Stable à 7 jours, ou
- Réponse incomplète à 14 jours

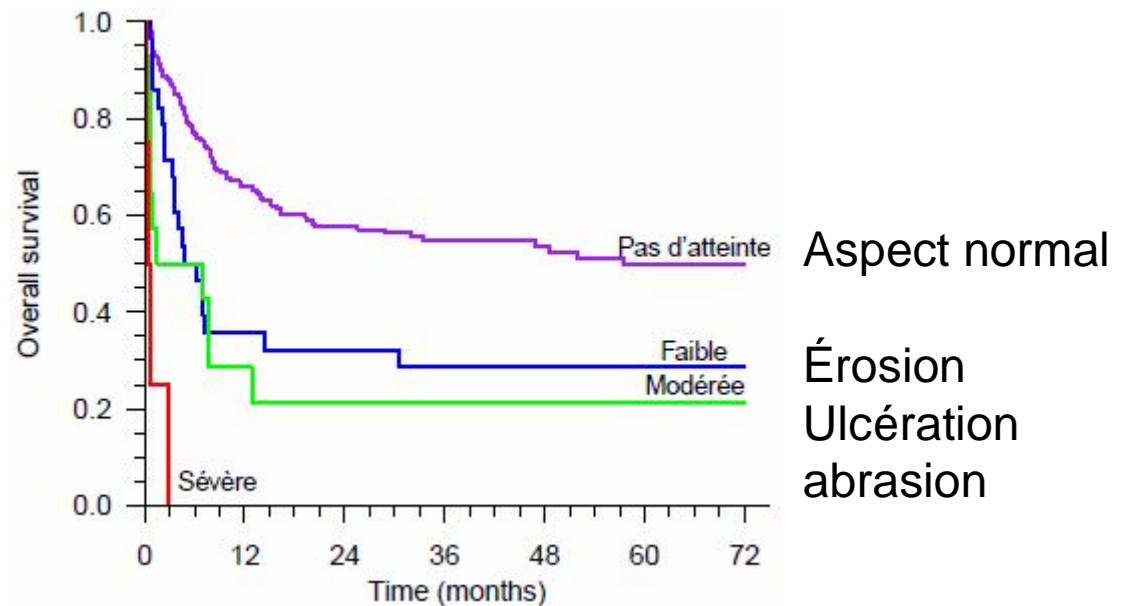
Si échec à la première ligne, le taux de mortalité est > 80%



Robin. Transplantation 2009

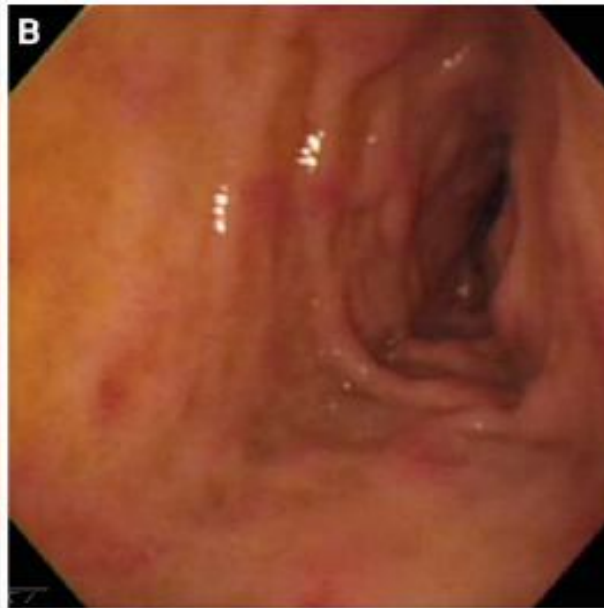
Endoscopie

- Invasif
- Atteinte iléale prédominante mais accès souvent impossible
- Corrélée à la gravité « endoscopique »
- Endoscopie haute macroscopiquement normale dans plus de 75% des cas: GVHD (vidéocapsule: 6/10 pt, Yacoub-Agha Transplantation 2004)



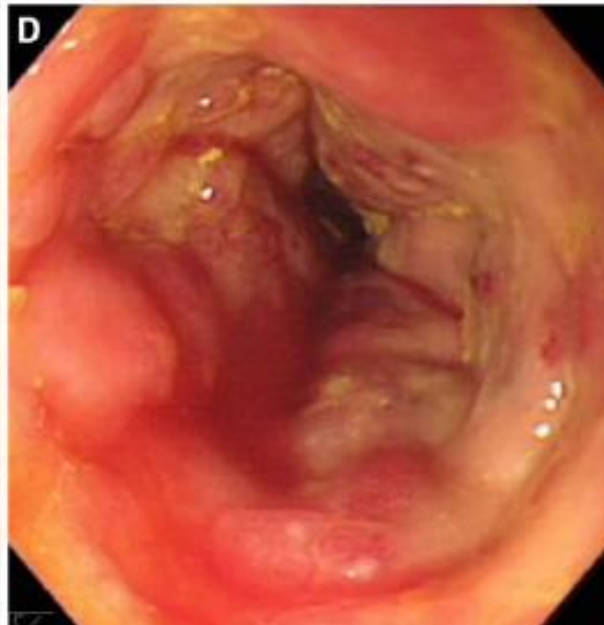
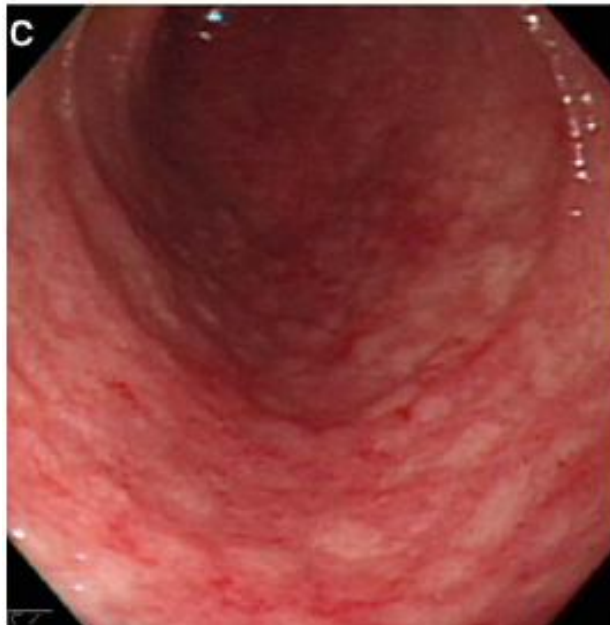
Hôpital Saint-Louis. Unpublished.

Grade I



Grade III

Grade II



Grade IV

Endoscopie haute et/ou basse, « rentabilité histologique »

Endoscopie	N	% positive	95%CI
Centre duo	17	76	52-99

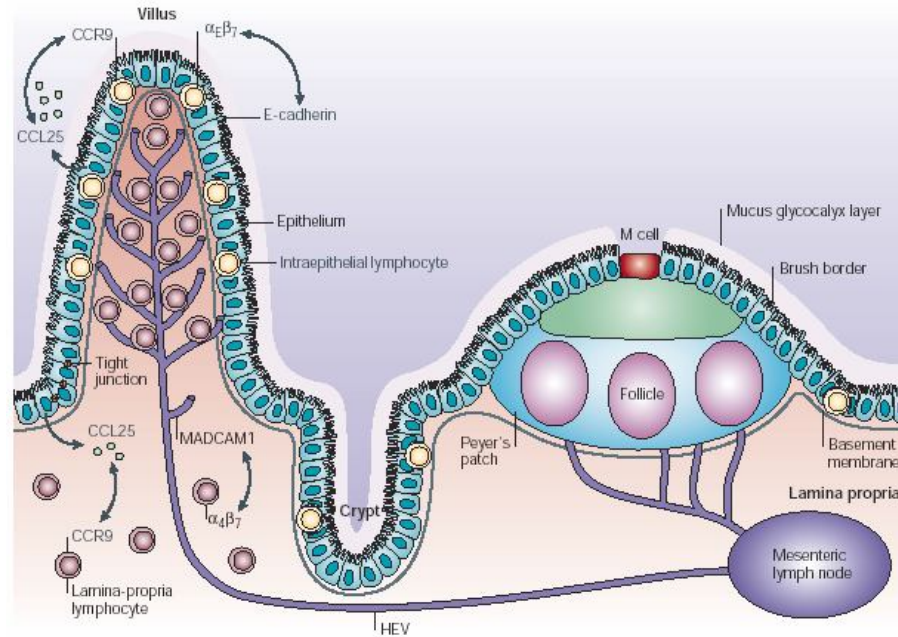
Diarrhée et
signe haut

Quelques soient les
symptômes, les fibroscopies
hautes ou basses pour
biopsies font la preuve de la
GVHD dans plus de 80% des
cas

Nausées-
vomissement
diarrhée

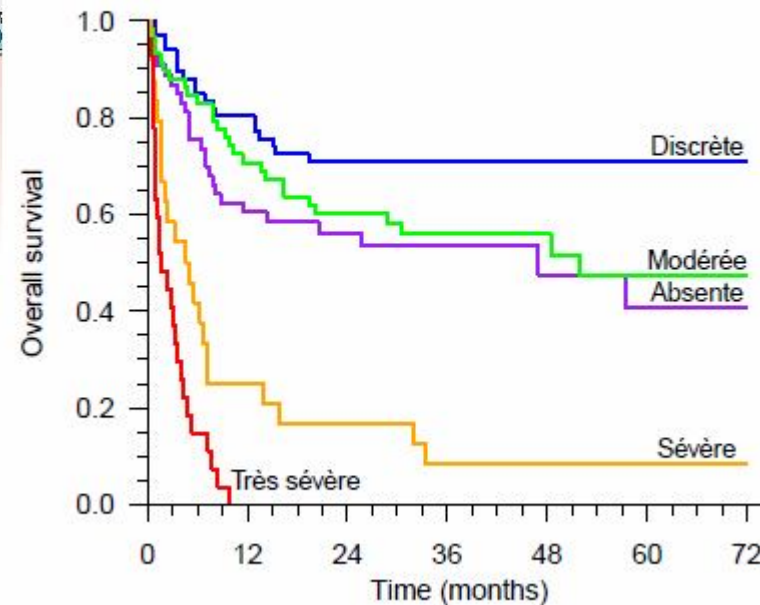
OGD&ileo-colo	14	93	70-99,7
---------------	----	----	---------

Histology



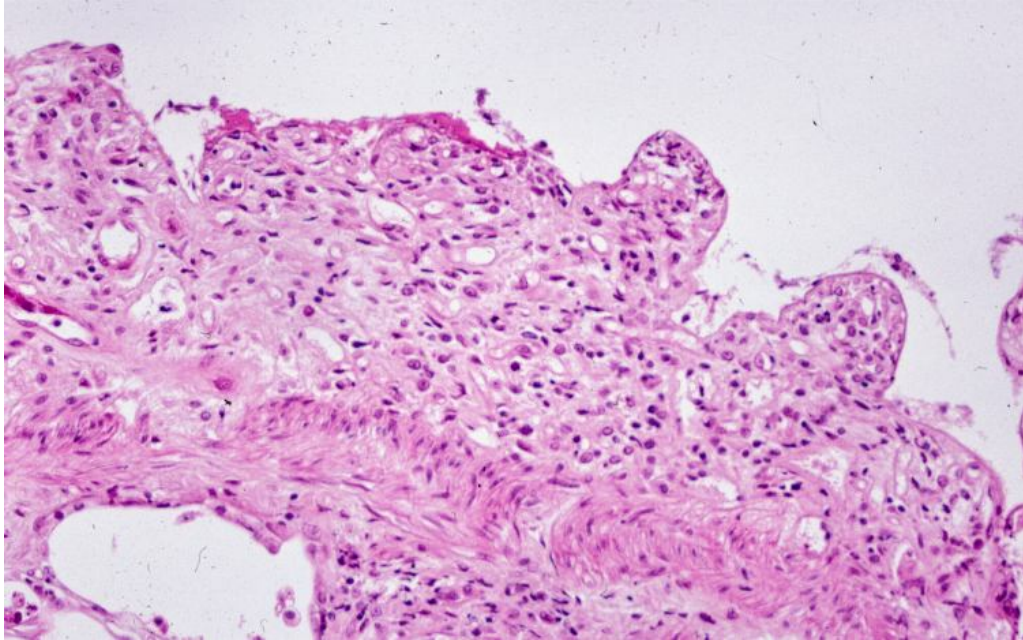
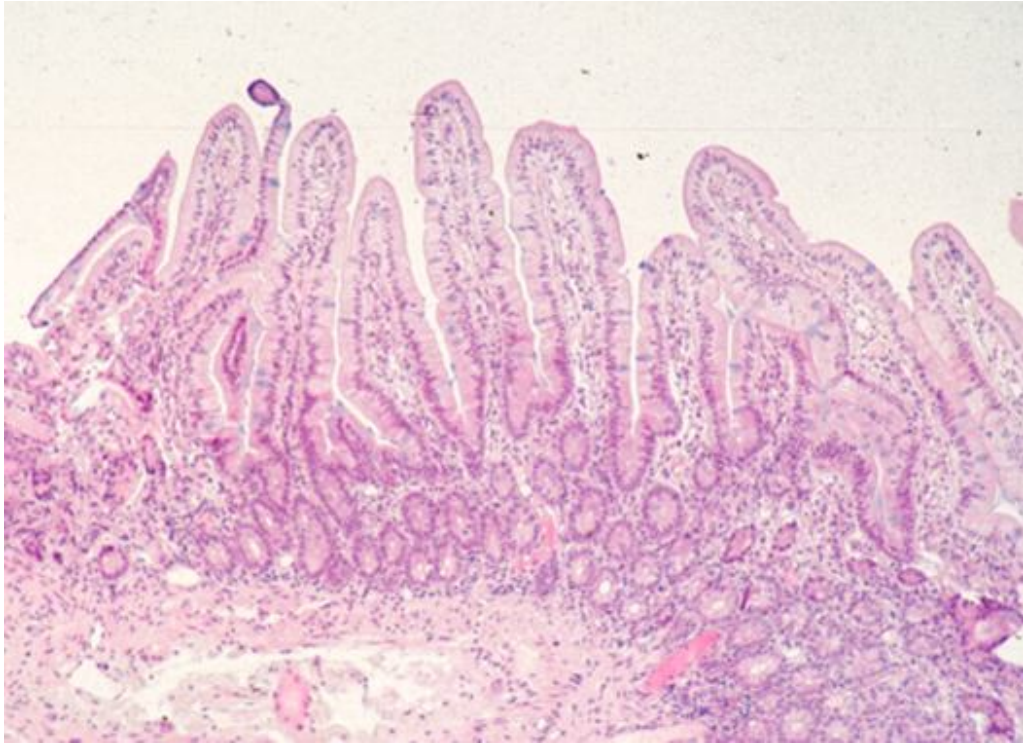
- grade I, crypt cell degeneration or epithelial cell apoptosis, without crypt loss;
- grade II, loss of up to 3 contiguous crypts;
- grade III, loss of 4 or more crypts without sloughing;
- grade IV, total sloughing.

A: histology



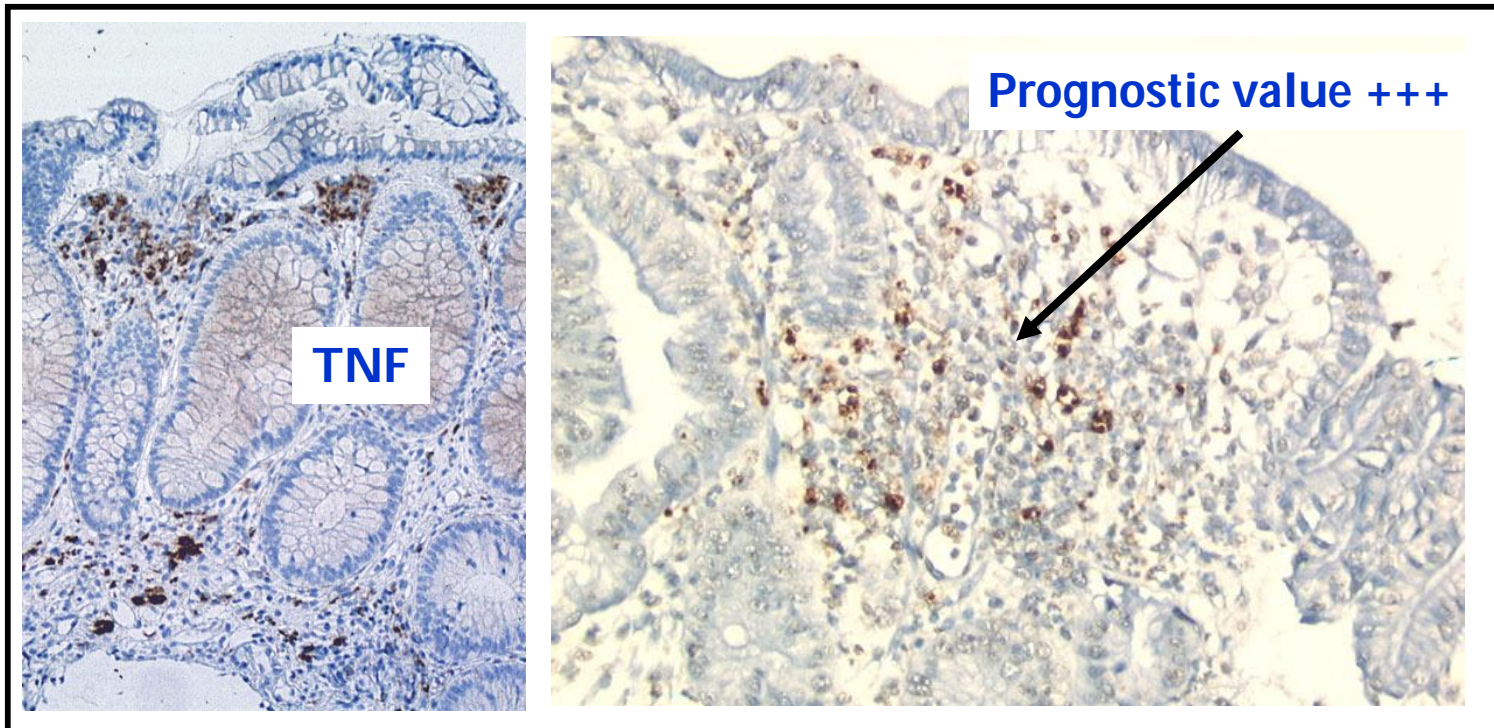
Hôpital Saint-Louis, not published

Sale Am J Surg Pathol 1979. Epstein Gastroenterology 1980

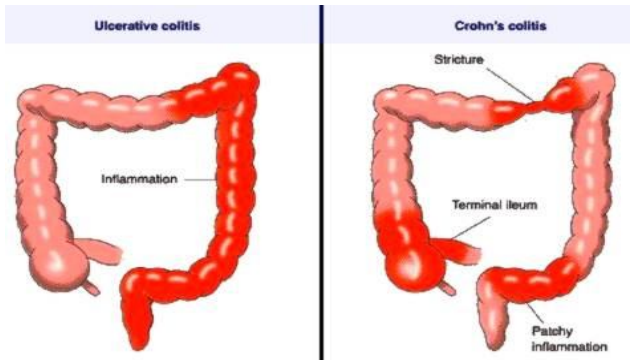


« Gravité histologique »

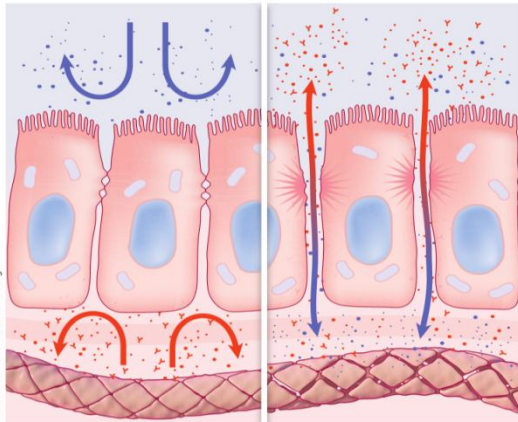
- Grade histo
- Atteinte endothéliale
- Infiltration neutrophiles
- Corps apoptotiques



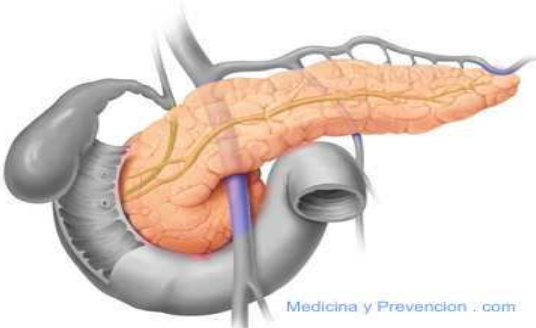
Coprologie fonctionnelle et diagnostic



Calprotectine: Maladies inflammatoires digestives



Apha-1-Antitrypsine: Entéropathie exudative



Elastase: Dysfonction pancréatique exocrine

GVH aiguë digestive:
BIOMARQUEURS



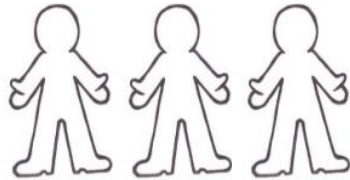
Objectifs

Évaluer l'utilité des concentrations fécales en calprotectine, alpha-1-antitrypsine et élastase comme marqueurs biologiques de la GVH aiguë digestive:

- Diagnostic
- Pronostic
 - Réponse complète au traitement
 - Cortico Résistance

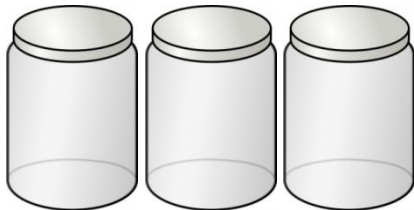
Patients et Méthodes

72 patients consécutifs entre 09/2008 et 12/2010:



- 60 avec symptômes digestifs
 - 51 GVH digestive (85%)
 - 9 patients sans GVH digestive
- 12 patients sans signes digestifs (avec GVHa)

Au début des signes digestifs:

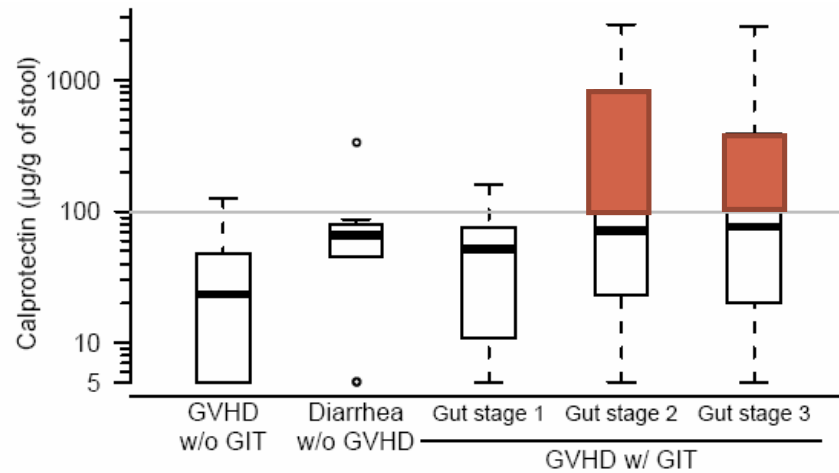


- **Prélèvements des selles** pour analyse microbiologique et dosages calprotectine, alpha-1-antitrypsine et élastase.

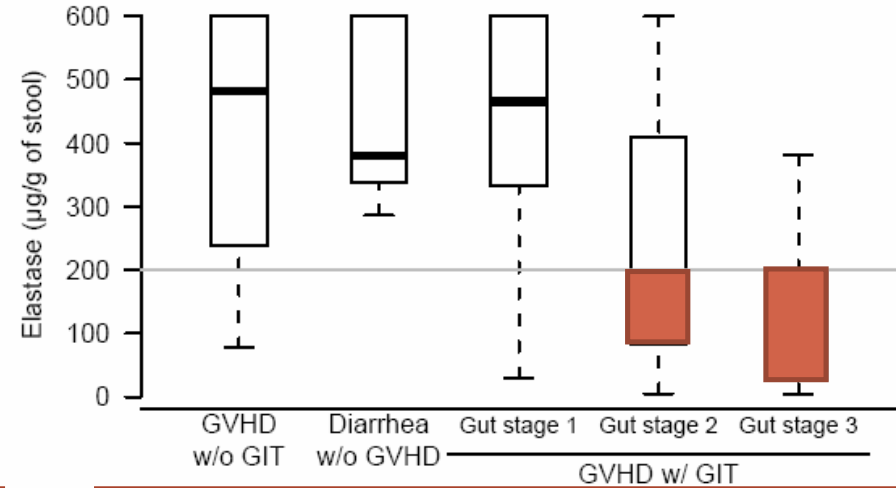
- **Recueil des données cliniques et biologiques:**

symptômes, stade GVH, statut OMS, albuminémie, protidémie, BH, traitement immunosuppresseur.

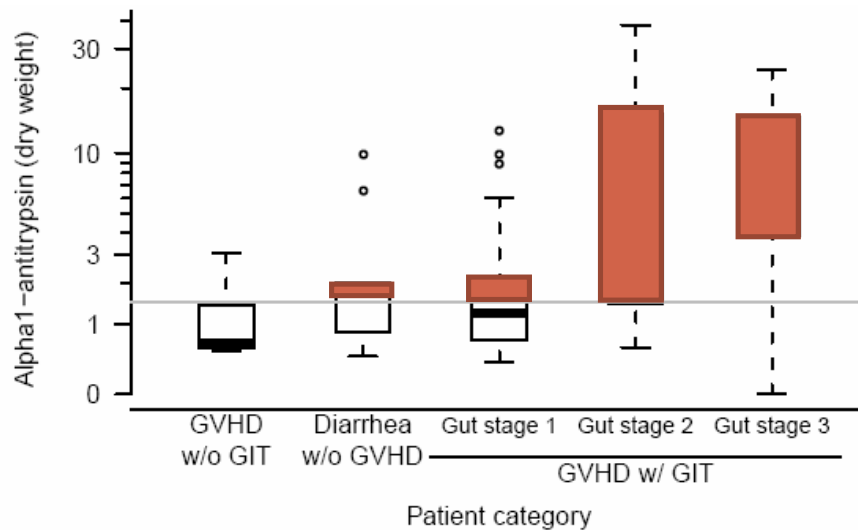
Résultats: Valeur diagnostique



Niveaux de CALPROTECTINE PLUS ÉLEVÉS chez patients avec GVH digestive std II-III



Niveaux d' ELASTASE DIMINUES chez patients avec GVH digestive std II-III



Niveaux d'A-1-AT PLUS ELEVES chez patients avec GVH digestive std II-III

Taux anormaux corrélés à la gravité de la GVHD mais sans spécificité

Les taux initiaux de CALPROTECTINE et Alpha-1-ANTITRYPSINE fécales chez les patients atteints d'une GVH aiguë digestive sont corrélés à la **SEVERITE** et à la **CORTICO RESISTANCE**.

Paula Rodriguez-Otero¹, Raphael Porcher², Régis Peffault de Latour¹, Margarita Contreras¹, Aliénor Xhaard¹, Yoram Bouhnik³, Anne Janin⁵, Annalisa Andreoli⁴, Patricia Ribaud¹, Nathalie Kapel⁶, Gérard Socié¹ and Marie Robin¹

¹Service Hématologie-Greffe de Moelle. Hôpital Saint-Louis, Paris, France.

²Département de Biostatistique et Informatique Médicale. Hôpital Saint-Louis, Paris, France.

³Service de gastro-entérologie, Hôpital Beaujon, APHP, Paris, France

⁴Service d'hématologie Adolescents et Jeunes Adultes. Hôpital Saint-Louis, APHP, Paris, France

⁵Service d'anatomopathologie, Hôpital Saint-Louis, APHP, INSERM U 728, Université Paris 7, Paris, France.

⁶Service de coprologie fonctionnelle, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, APHP, Paris, France



Résultats: prédiction fonction des marqueurs

N de marqueurs		RC	P	Cortico-résistance	P
0	18	90% (57 - 98)		3 (17%)	
1	16	81% (48 - 94)		9 (56%)	
2	14	53% (21 - 78)	0.002	13 (93%)	<0.0001

Cortico-résistance: Modèle Multivarié

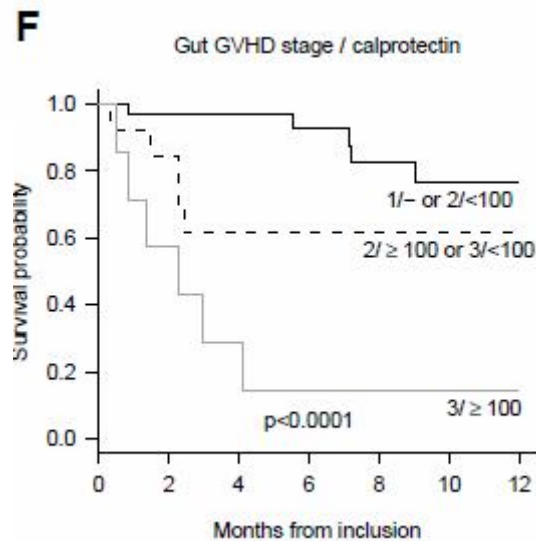
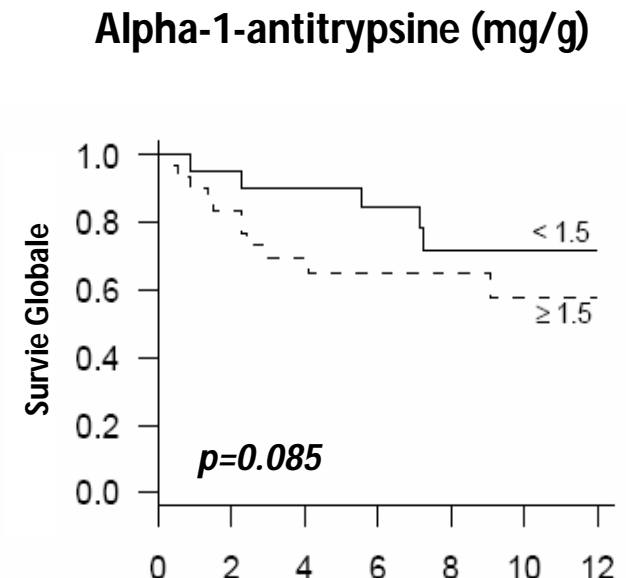
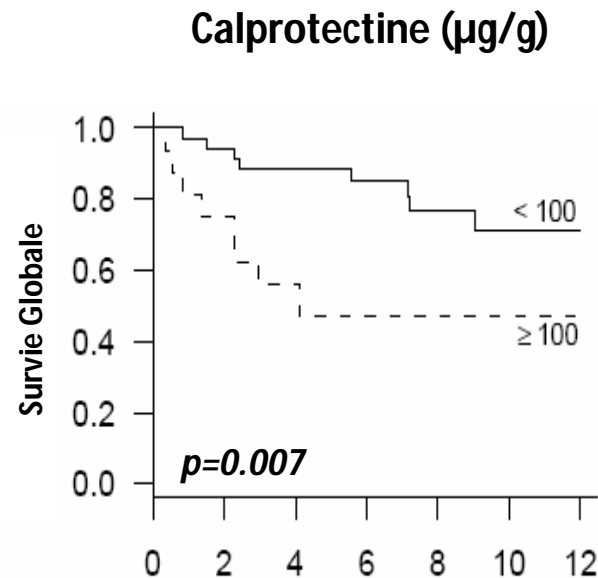
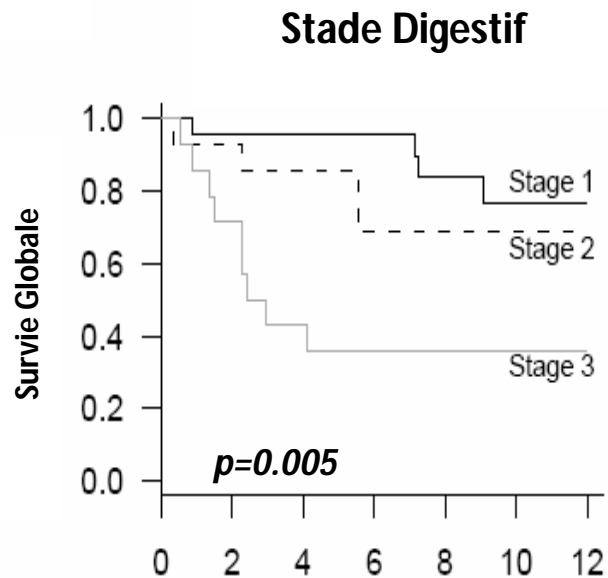
Avec le stade digestif

	Adjusted OR – CR-GVH	95% CI	P Value
Calprotectine > 100µg/g	17.1	1.71 - 170.5	0.016
Alpha-1-antitrypsine > 1.5 mg/g	3.67	0.74-18.2	0.11
GI-GVHD stade 3	7.11	1.06 - 47.6	0.043

Sans le stade digestif

Calprotectine > 100µg/g	15.8	1.71 to 146.6	0.015
Alpha-1-antitrypsine > 1.5mg/g	4.93	1.09 to 22.3	0.038

Résultats: Survie



- Dans les stades 2, on peut distinguer des bas risques avec calpro < 100 et survie à 80% et des hauts risque avec survie 60%
- Dans les stades 3, les patients avec calpro > 100 ont une survie < 20% contre 60% si calpro < 100

Résumé: coprologie fonctionnelle

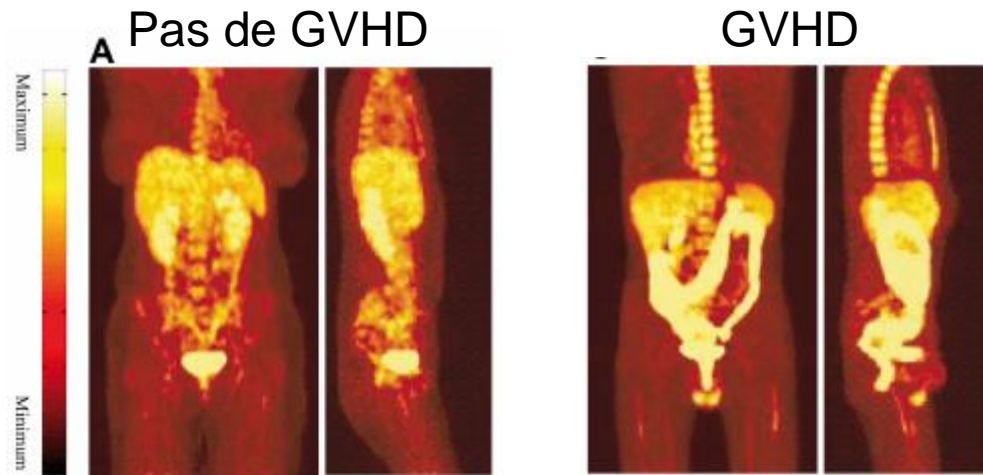
La Calprotectine et l'alpha-1-antitrypsine peuvent être considérés comme des nouveaux marqueurs biologiques fécaux non invasifs dans le cadre de la GVH digestive.

L'utilité dans le diagnostic de la GVH digestive est limitée car ils sont souvent normaux chez les patients avec un stade 1 digestif.

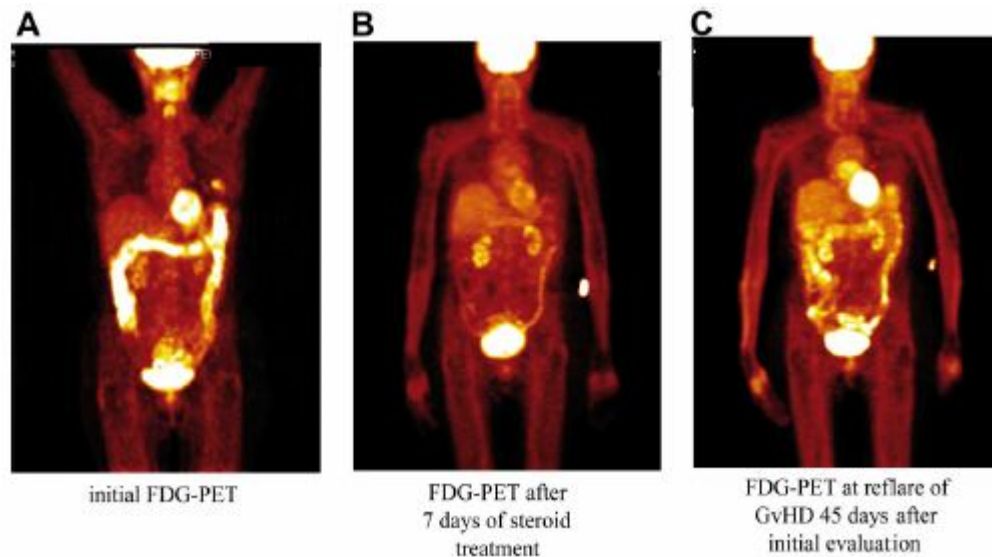
La calprotectine et l'alpha-1-antitrypsine prédisent de façon significative la réponse à la corticothérapie.

Ces marqueurs non invasifs peuvent facilement être utilisés en routine pour prédire la GVH cortico-résistante.

Intérêt du Pet scan



- Non invasif
- Positivité essentiellement colique: zone de prédilection de l'inflammation (+ de stimuli pro-inflammatoire, LPL...)
- + 14/17 pt GVHD+
- + 0/13 pt GVHD-



Utilisé dans le suivi de la réponse

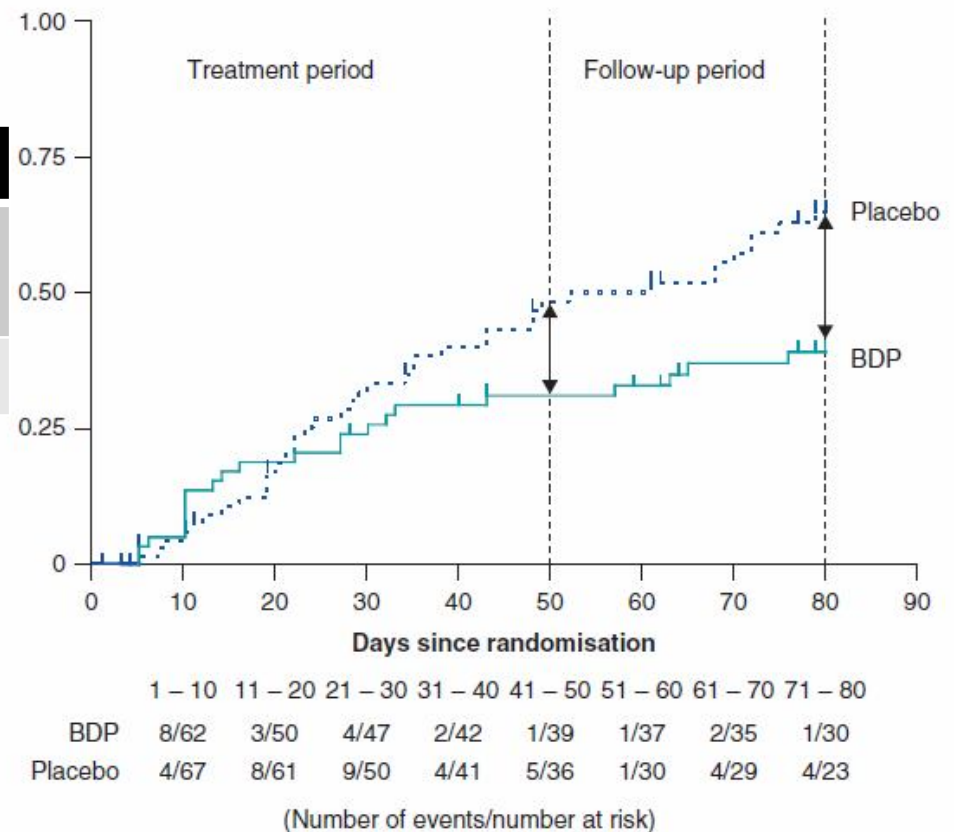
Traitement de la GVHD digestive

- Prévention de la GVHD, QS
- Corticothérapie par voie générale à forte dose $>$ ou $=$ 1mg/kg/J, intérêt du 2mg/kg ?
- Soins de support, fuite capillaire, 3^e secteur, hypoprotidémie majeur, lutte contre la dénutrition et les carences vitaminiques
- Corticoïdes non absorbés ?

Corticoïdes non absorbés

2 Etudes randomisées [Prednisolone 1mg/kg/J 10 jours puis décroissance rapide jusqu'à plateau à # 5mg à J17 +/- budesonide]

	Etude 1	Etude 2
Taux de réponse	71% vs 41%	61% vs 35%
Survie	81% vs 69%	71 vs 58%

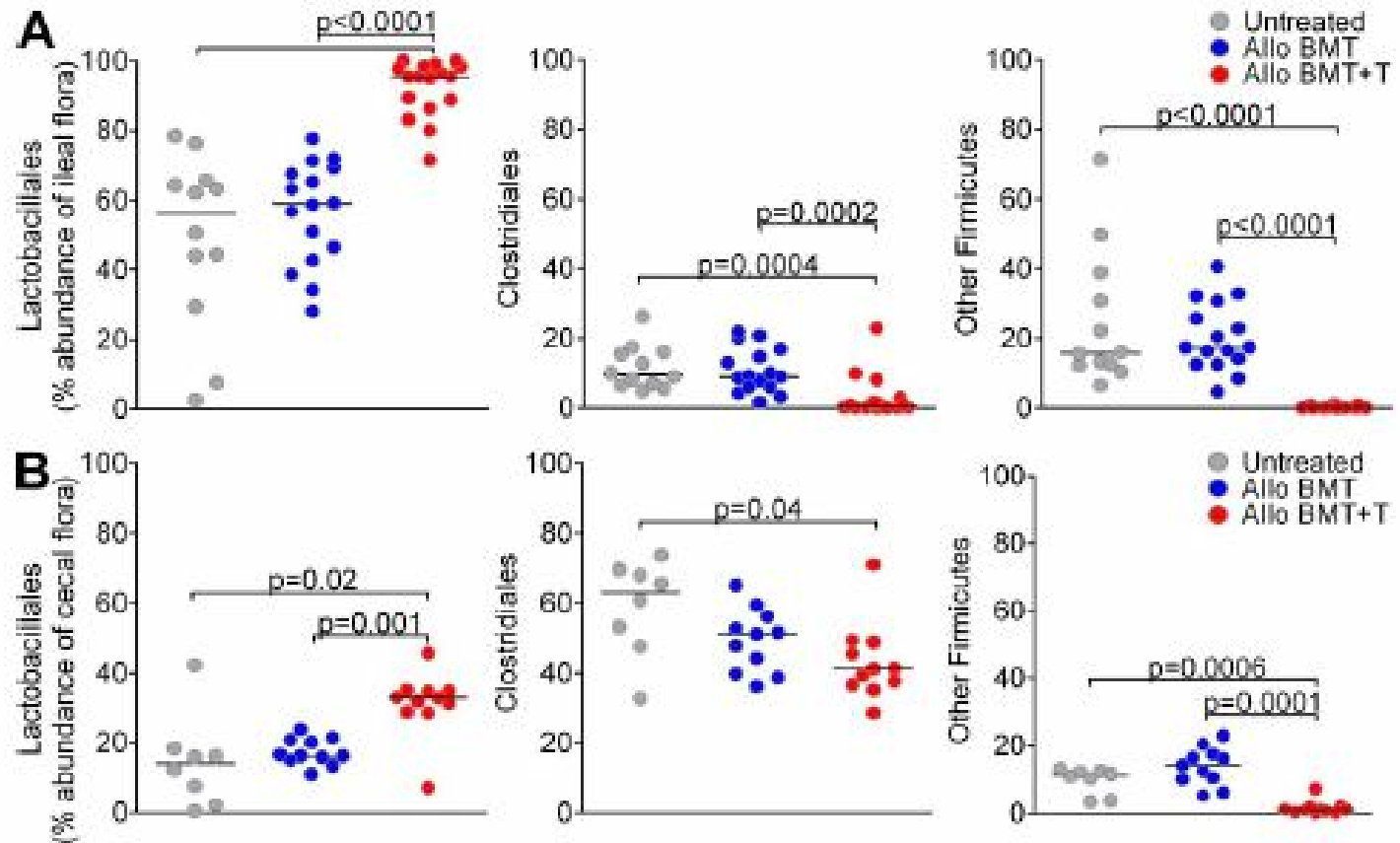


Mac Donald et al Gastroenterology
1998 & Blood 2007 Hockenbery

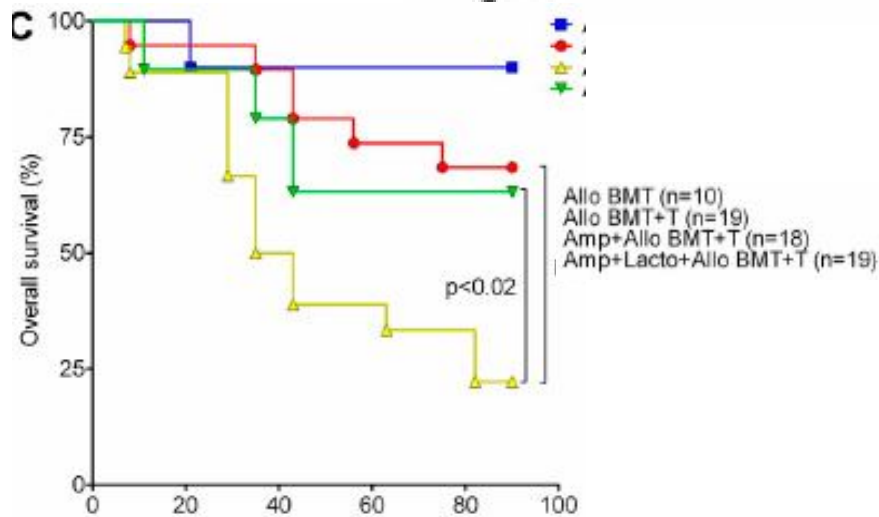
Facteurs de risque de GVHD digestive

- Facteurs de risque de GVHD:
 - Pas de T déplétion
 - mismatch HLA
 - âge
 - donneur F/receveur H
- Polymorphisme génétique (Toll-like receptor, NOD2/CARD15 Blood 2004)
- **Microbiote** (J Exp Med 2012. Jenq... Van den Brink. NY. Blood 2012. Eriguchi. Blood 2004. Gerbitz)

Microbiote

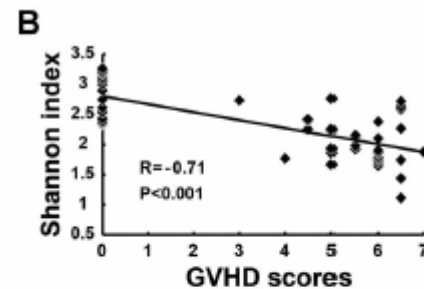
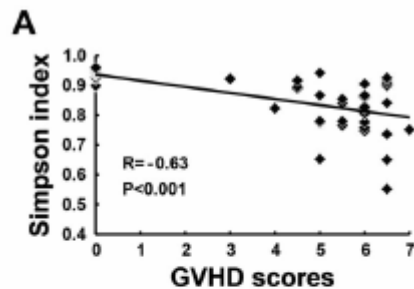
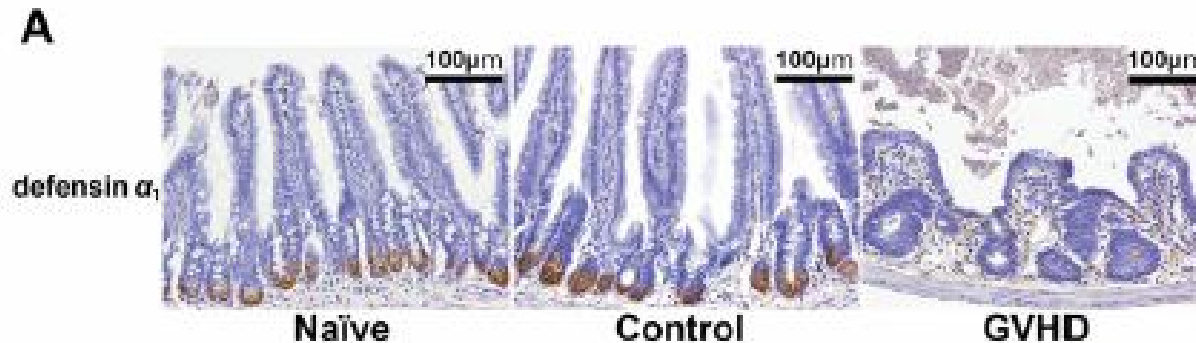


Modification postgreffe du microbiote

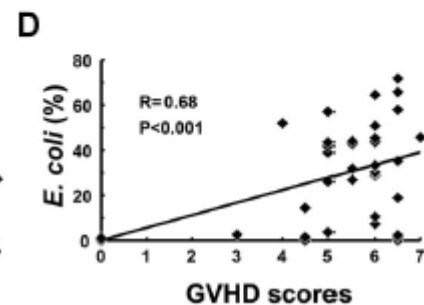
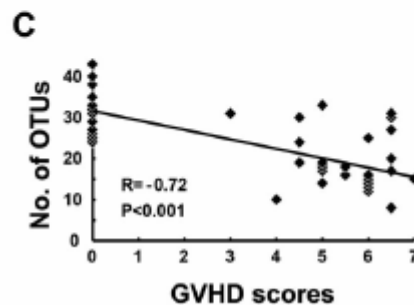


Amélioration de survie (modèle murin)
selon microbiote (antibiotique)

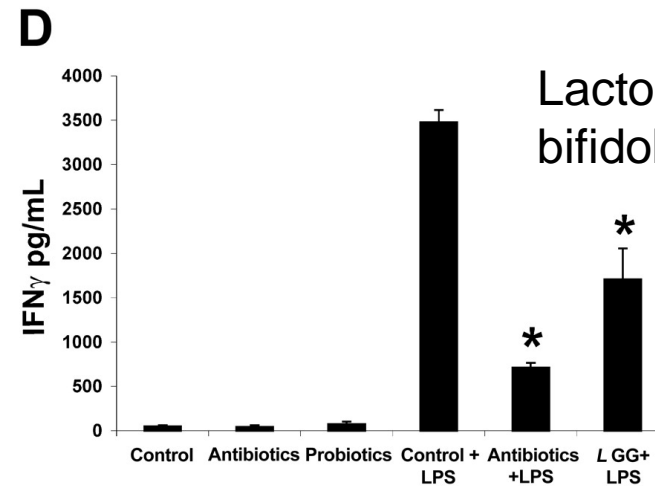
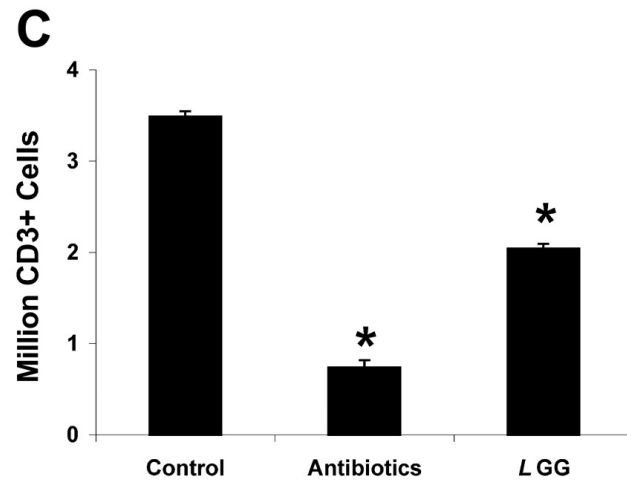
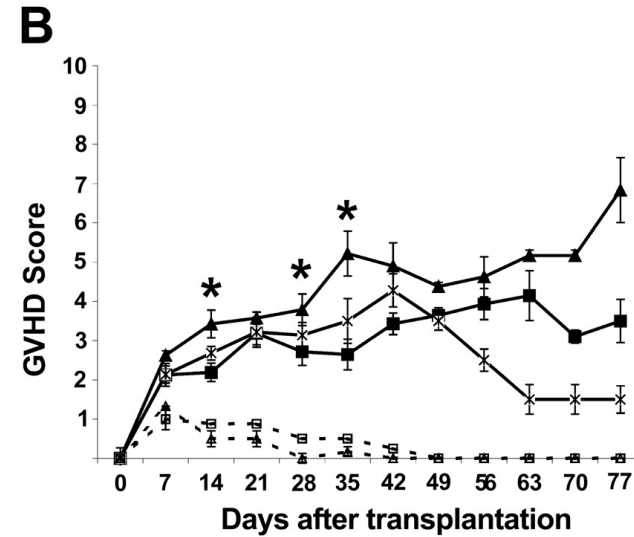
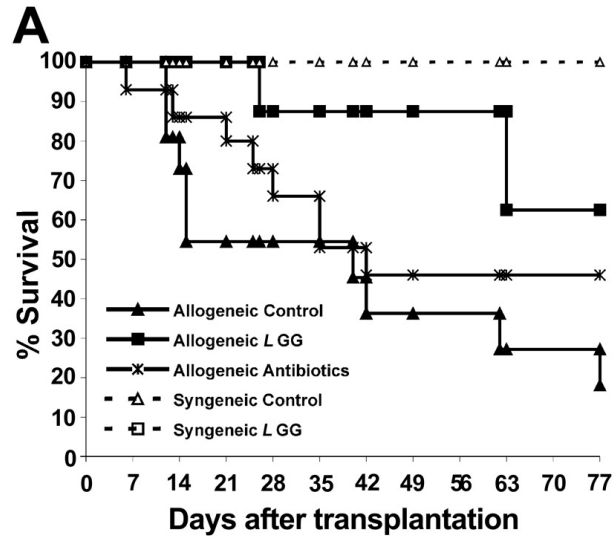
« Graft-versus-host disease disrupts intestinal microbial ecology by inhibiting Paneth cell production of alpha-defensins »



- Corrélation entre le changement microbiote et la gravité de la GVHD
- Perte de diversité
- Emergence de BGN

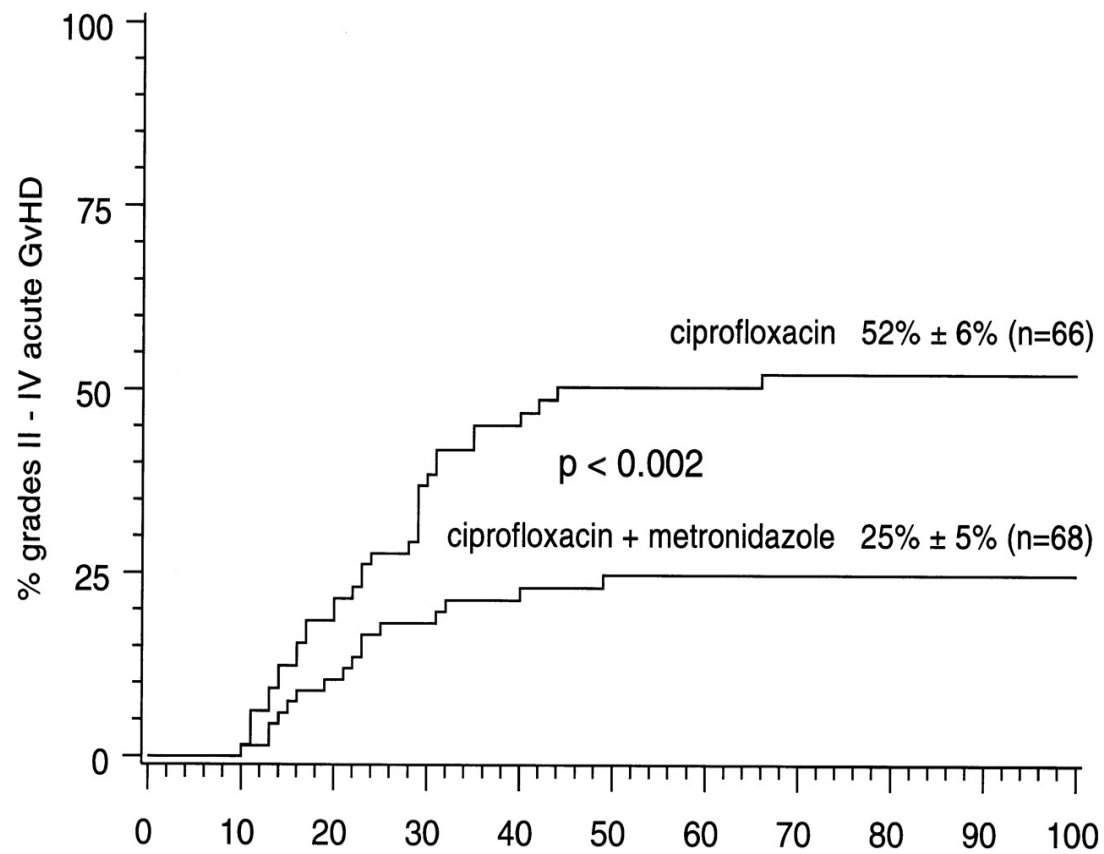


Probiotic effects on experimental graft-versus-host disease: let them eat yogurt



Gerbitz A et al. Blood 2004;103:4365-4367

Role of intestinal bacterial decontamination



Beelen et al. : Blood 1999: 93; 3267 - 3275

REG3 α : ANTIMICROBIAL PROTEIN EXPRESSED IN PANETH CELLS

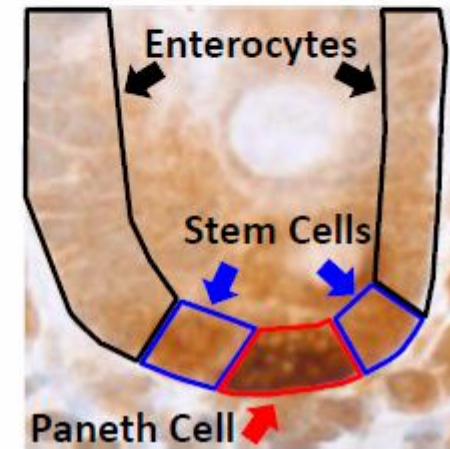
REG3 α Immunohistochemistry (40X):

Paneth cells: guardians of the intestinal stem cell niche

Ayabe et al., Nature Immunol 2000

C-type lectin with direct antimicrobial properties

Cash et al., Science 2006, Vaishnava et al., Science 2011



Induced in response to inflammatory stimuli such as bacteria, mucosal damage or inflammatory bowel disease

Ogawa et al., Inflammatory Bowel Diseases 2003

REG3 α inhibits NF κ B activation induced by TNF- α , decreasing production of inflammatory cytokines and cellular adhesion molecules

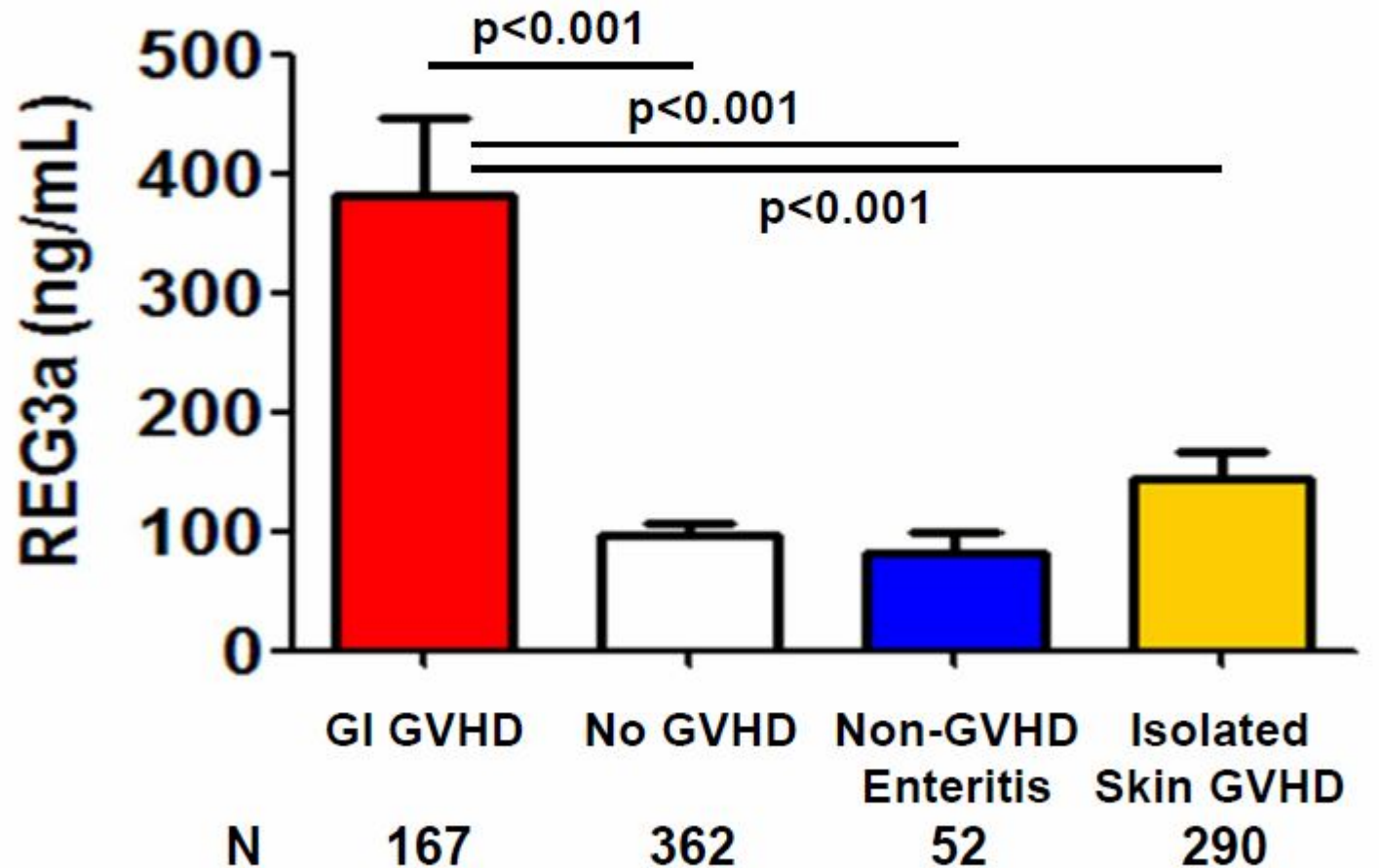
Gironella et al., Gut 2005

REG proteins mediate mechanisms downstream of IL-22

Zheng et al., Nature Medicine 2008

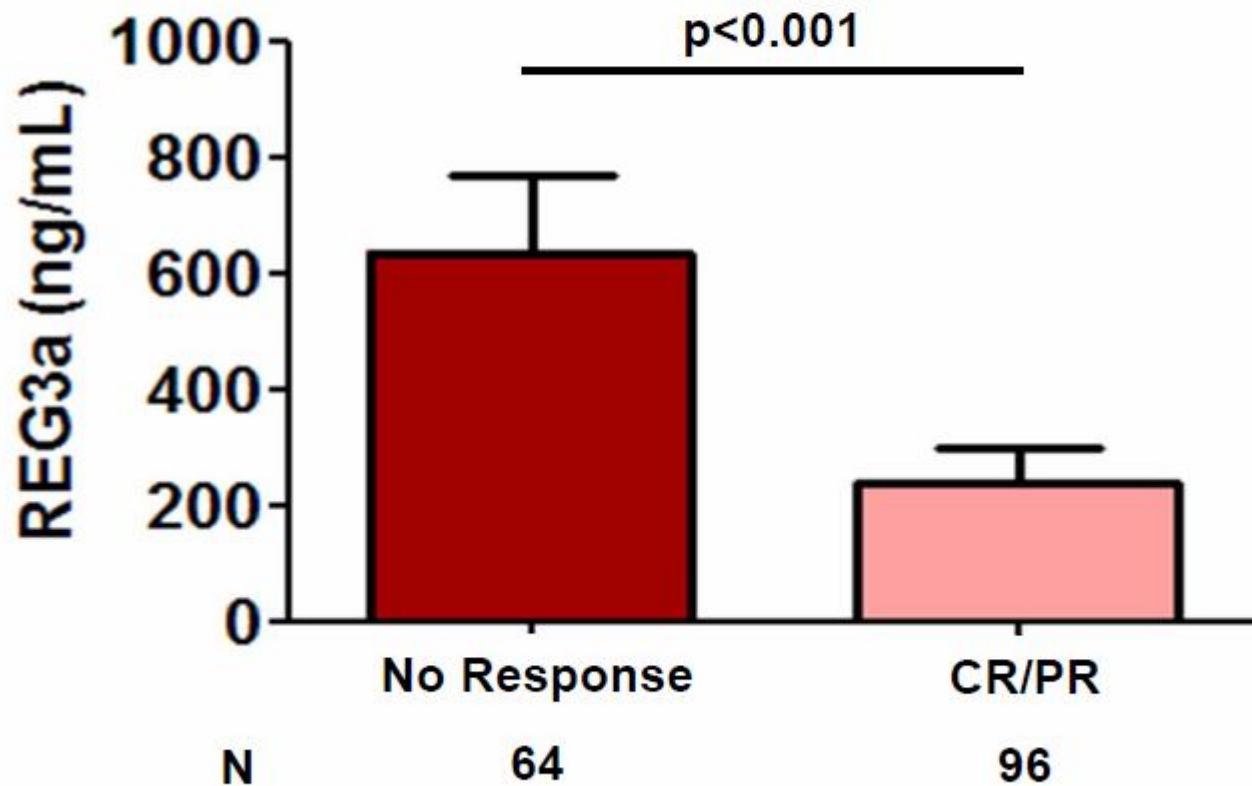
Paszesny et al. Personal communication

REG3 α PLASMA CONCENTRATIONS AT ONSET OF GI GVHD IN 871 UM BMT PATIENTS

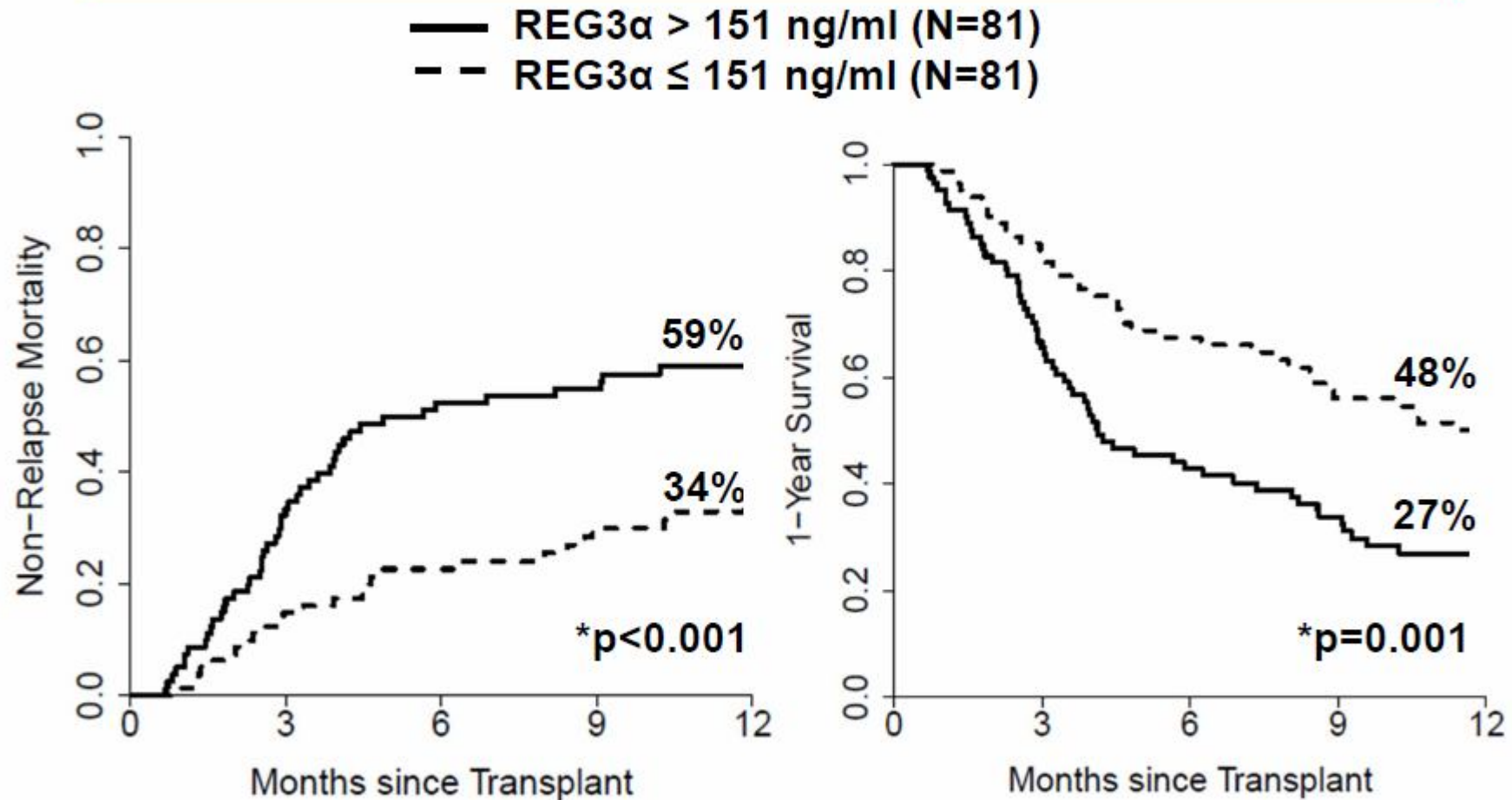


p-values based upon two-sample *t*-test applied to log-transformed values

REG3 α CONCENTRATIONS AT ONSET PREDICT D28 RESPONSE TO TREATMENT



HIGH REG3 α CONCENTRATIONS PREDICT NRM AND SURVIVAL



* Adjusted for donor type, HLA match, conditioning intensity, age, and underlying disease

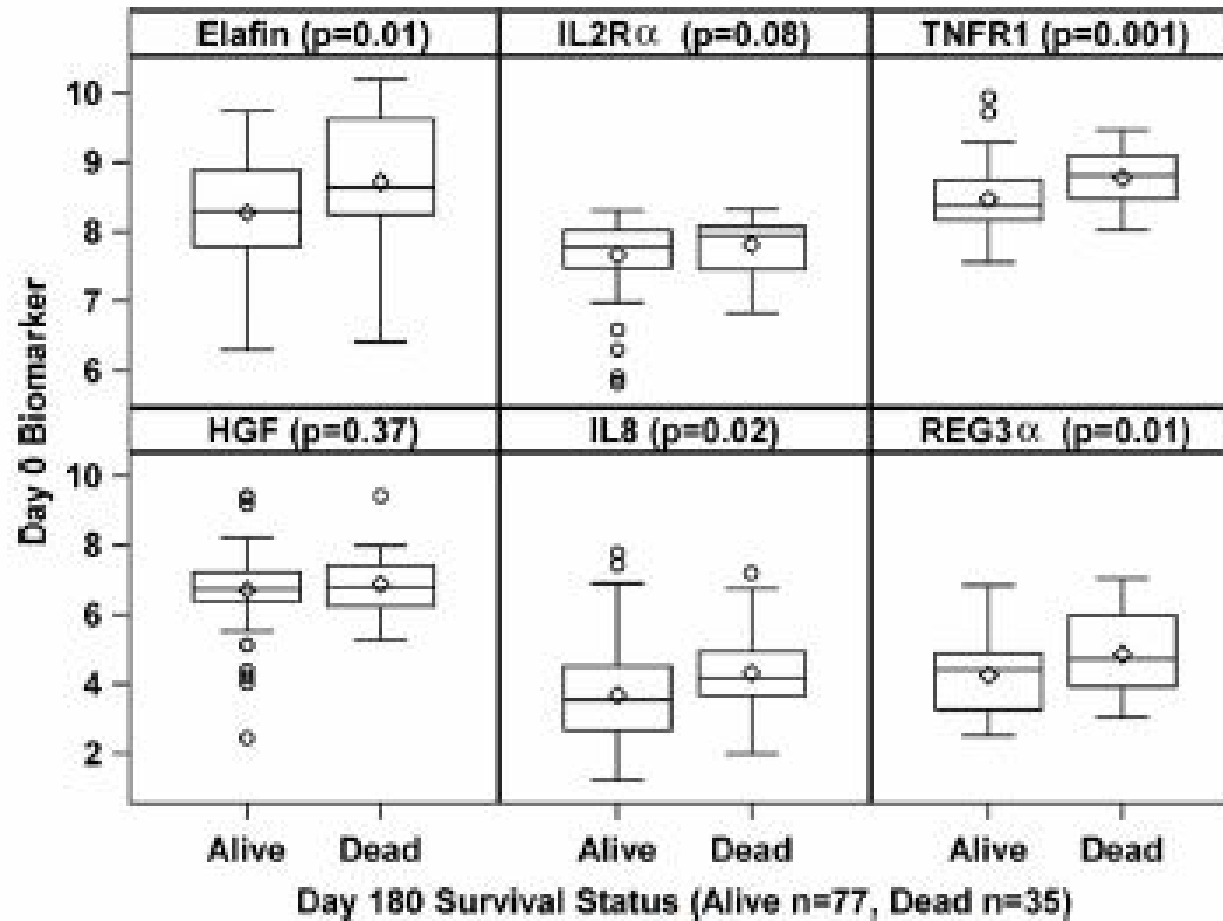


Figure 1. Biomarker concentrations at study entry (day 0) according to day 180 survival status. The boxplots show the range, median, and mean (diamond) graphed on a log-scale for each of the 6 biomarkers measured on day 0 according to the day 180 survival status (alive or dead). *P* values are shown for the comparison of median concentrations for each biomarker.

Conclusion

- Diarrhée de l'allogreffe: infection vs GVHD
- GVHD digestive:
 - de plus en plus de moyens diagnostiques et pronostiques mais à valider;
 - des moyens thérapeutiques limités:
 - prévention++,
 - curatif: pas de réel progrès dans les GVHD cortico-résistante
 - Nouvelles molécules ?

PCR ADV sanguines

La PCR sang + est prédictive de maladie disséminée et de DC

Certains patients ont des PCR+ < 5000 copies/ml sans maladie
(Yusuf Transplantation 2006)

