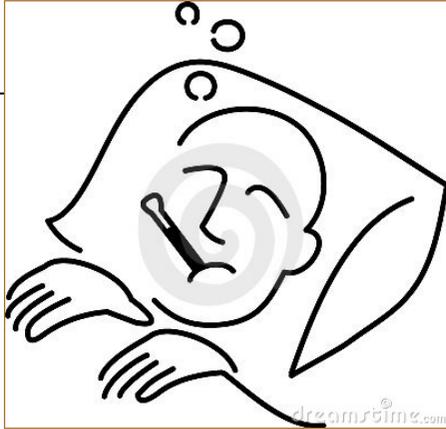


# Diarrhées après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques

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

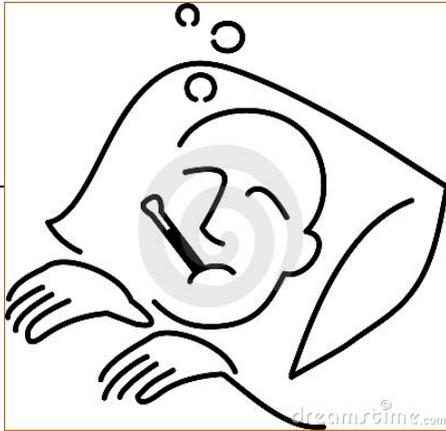
J75.....J200.....J700

Causes infectieuses

Conditionnement  
Radiothérapie  
AB - décontamination

GVHD

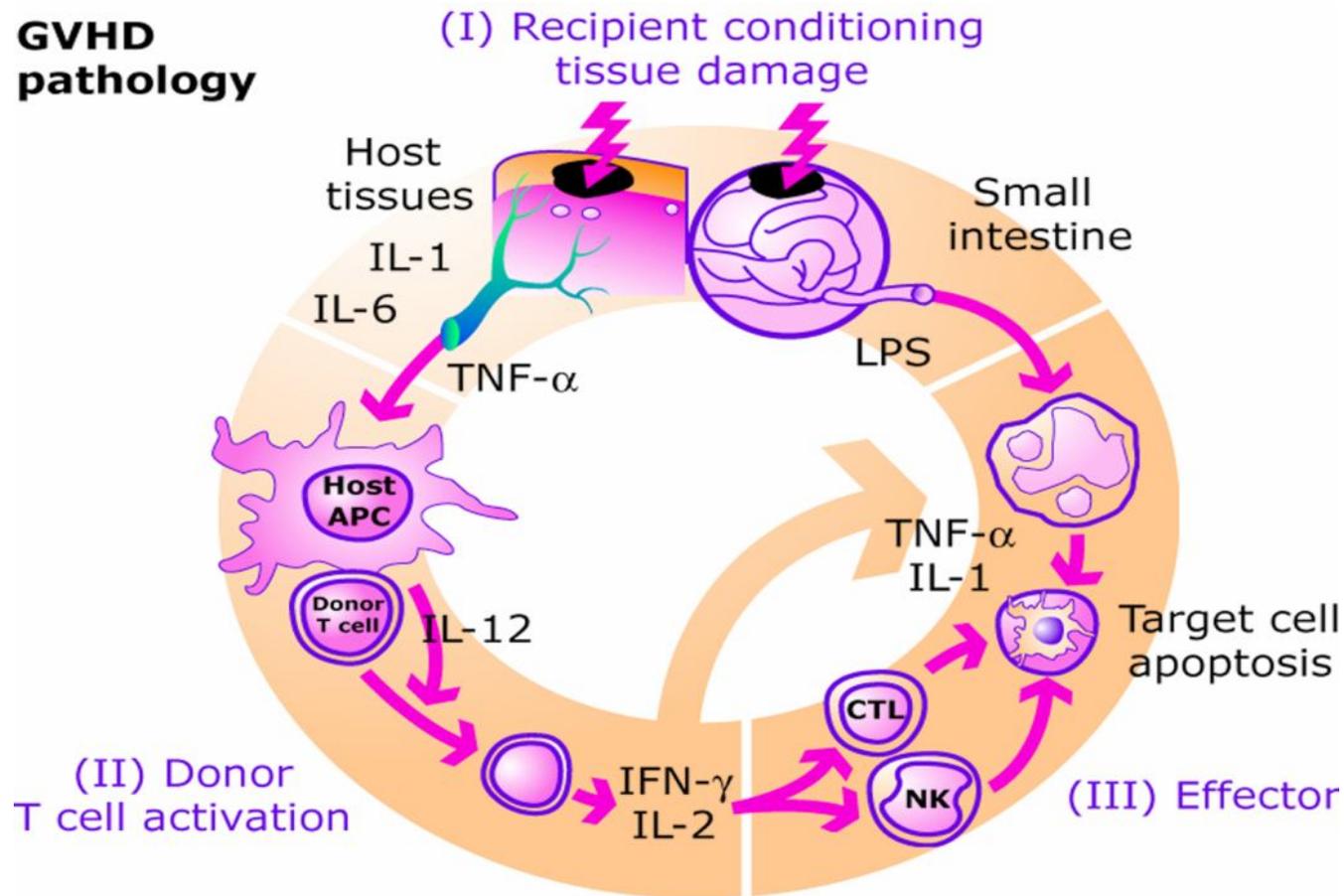
# Clinique



- 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 ?

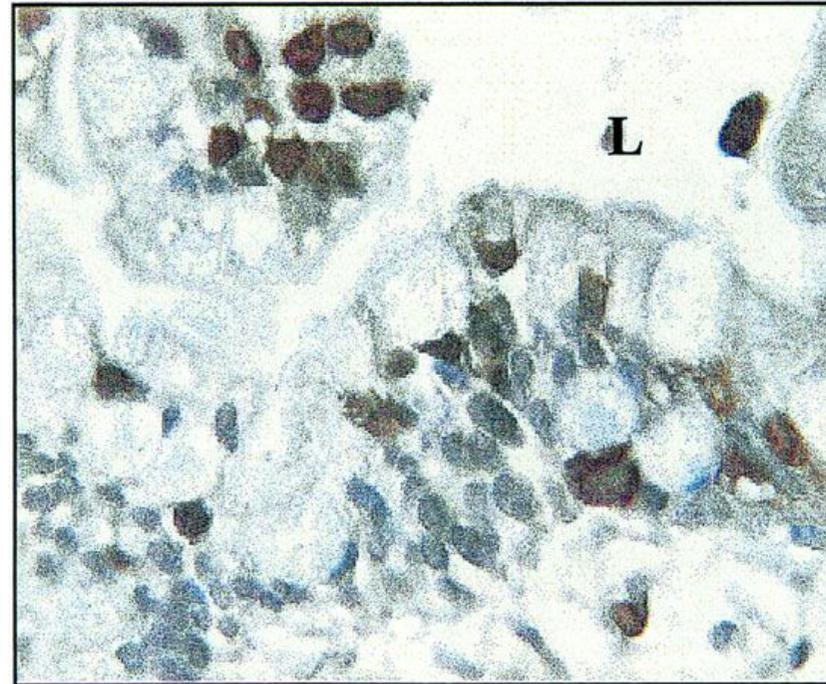
# PCR ADV quantitative dans les selles

- 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*:<br>selles,<br>urine,<br>Respi | Histologie | Signes            |
|---------------------------|---------------------------------------|------------|-------------------|
| <b>Infection</b>          | Pos                                   | neg        | Non               |
| <b>Maladie localisée</b>  | Pos                                   | Pos**      | oui<br>1 organe   |
| <b>Maladie disséminée</b> | Pos                                   | Pos**      | oui<br>> 1 organe |

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

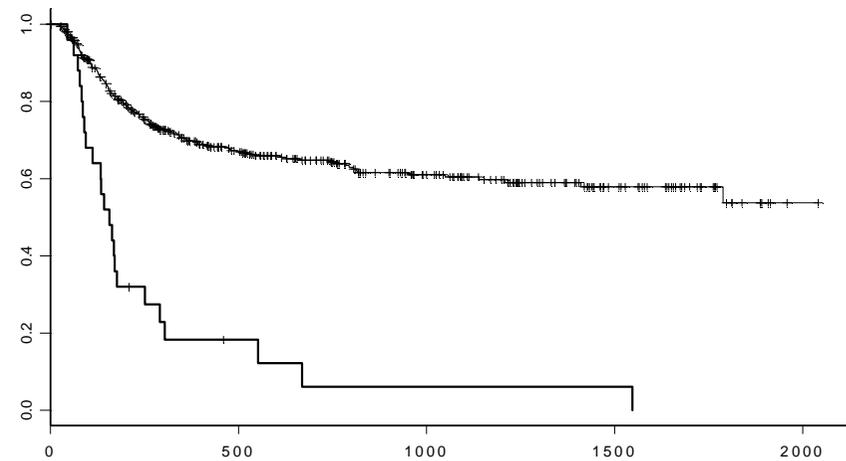
Flomenberg JID 1994. Eschevarria Lancet 2001, Lion Blood 2003, Lerruez-Ville CID 2004

# 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

---

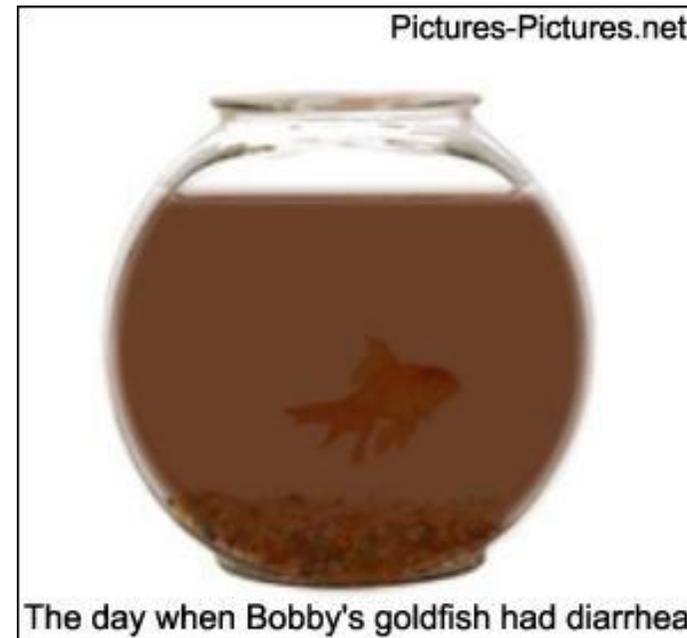
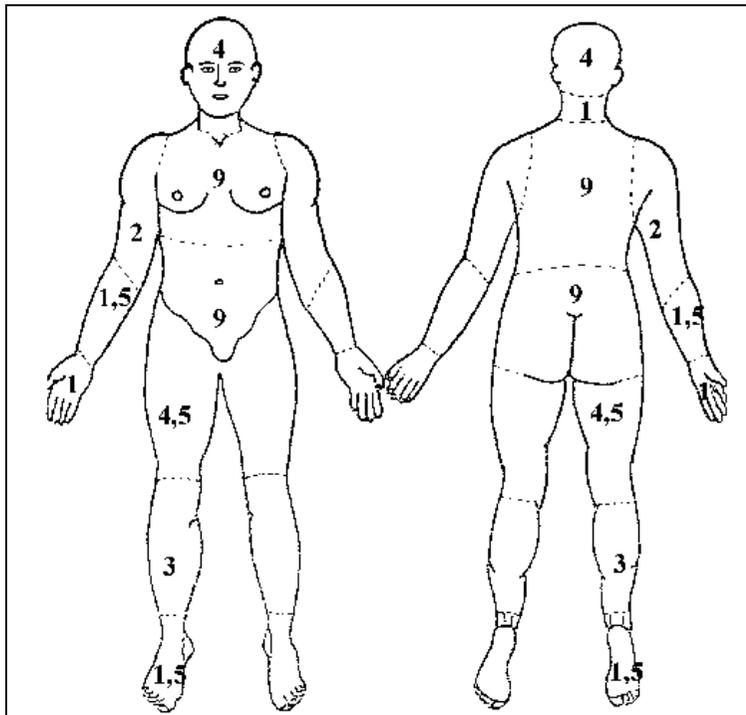
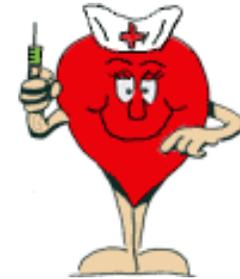
| Stage | Diarrhea : Volume / Day                        |
|-------|--|
| +     | > 500 ml                                       |
| ++    | > 1000 ml                                      |
| +++   | > 1500 ml                                      |
| ++++  | Severe abdominal pain<br>With or without ileus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

# 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

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

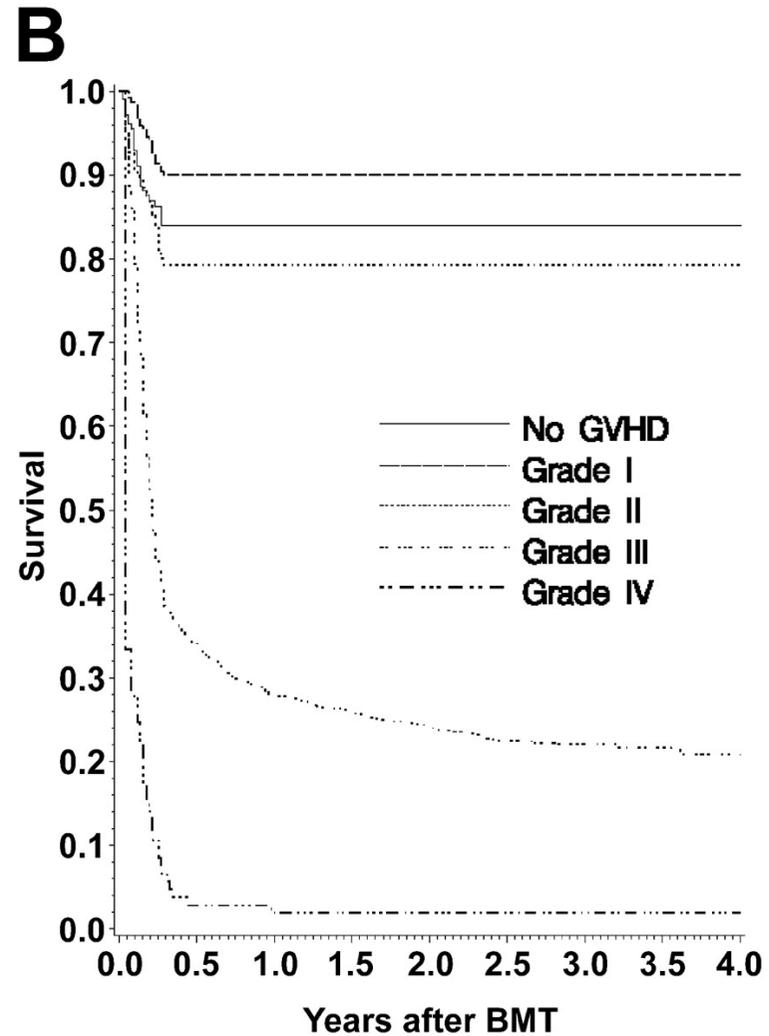
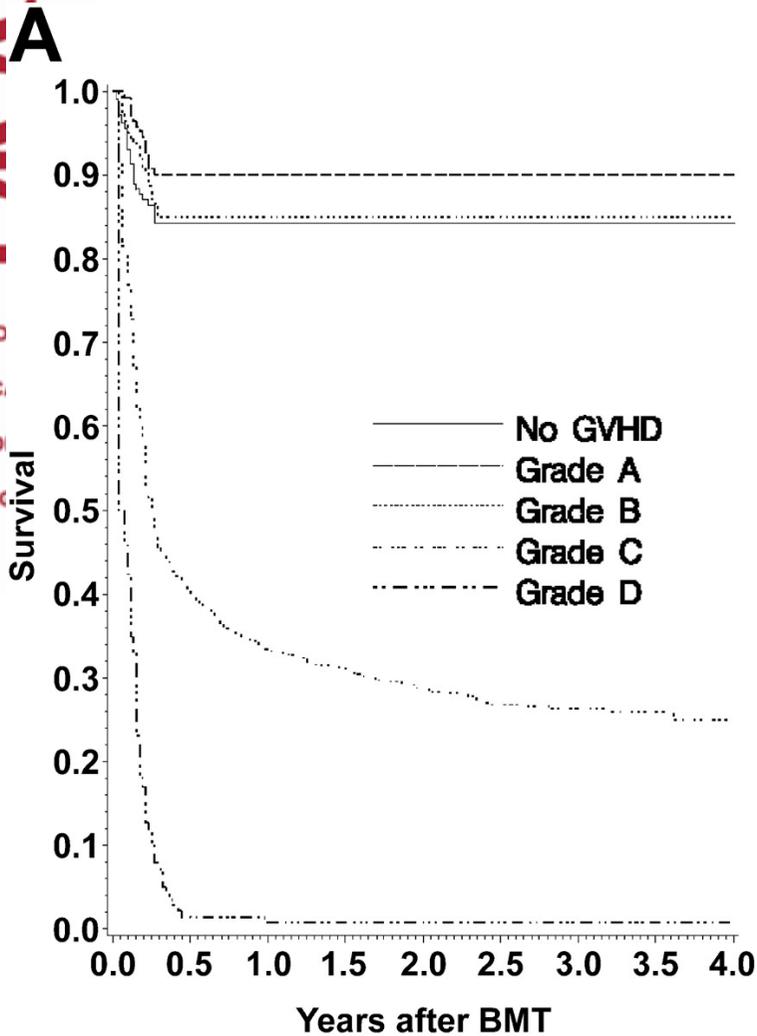
## Clinical Grading of acute Graft - vs- Host Disease

| <b>Grade</b> | <b>Degree of organ involvement</b>   |
|--------------|--|
| <b>I</b>     | + to ++ skin rash; no gut nor liver involvement; no decrease in clinical performance                       |
| <b>II</b>    | + to +++ skin rash; + gut or liver involvement (or both); mild decrease in clinical performance            |
| <b>III</b>   | ++ to +++ skin rash; ++ to +++ gut or liver involvement (or both); marked decrease in clinical performance |
| <b>IV</b>    | 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....*

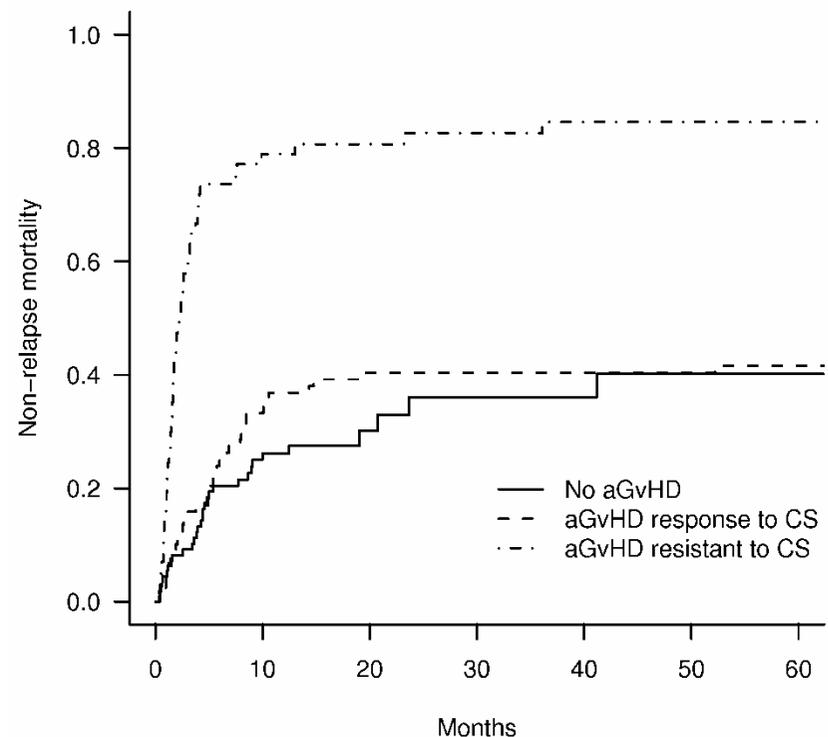
Traitement de première intention: Methylprednisolone = 2mg/kg/d.

Taux de réponse entre 25 et 45%

Echec:

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

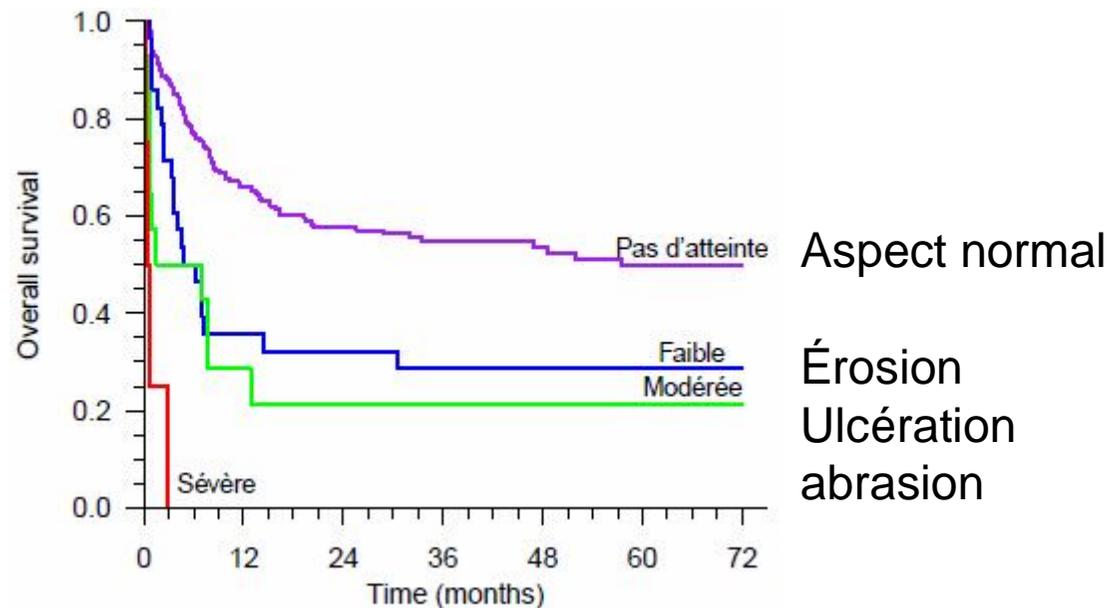
Si échec à la première ligne, le taux de mortalité est > 80%



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)

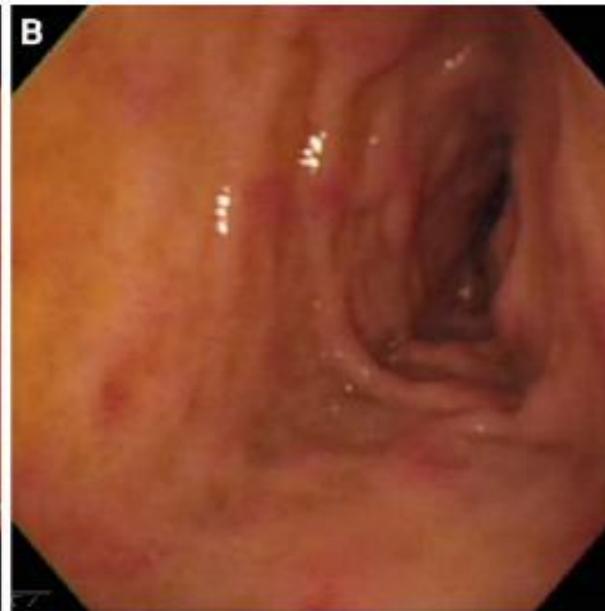


Hôpital Saint-Louis. Unpublished.

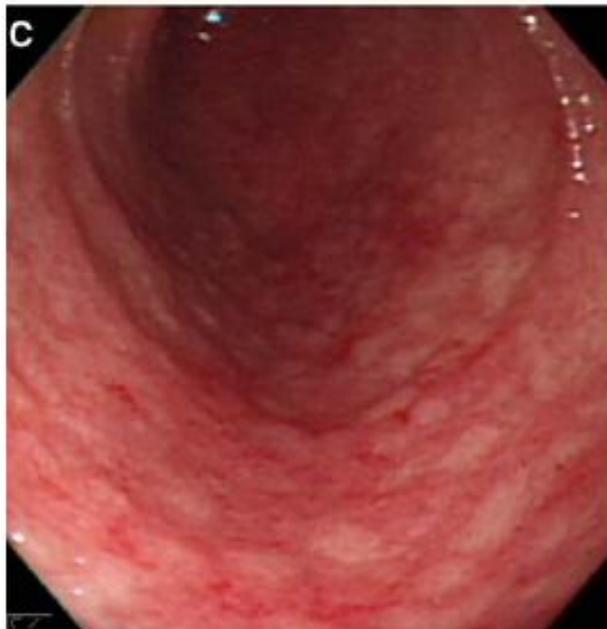
Grade I



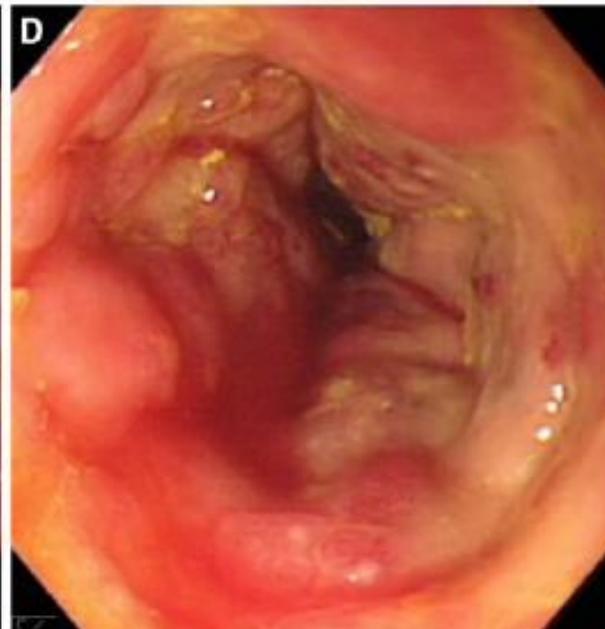
Grade III



Grade II



Grade IV



# Endoscopie haute et/ou basse, « rentabilité histologique »

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

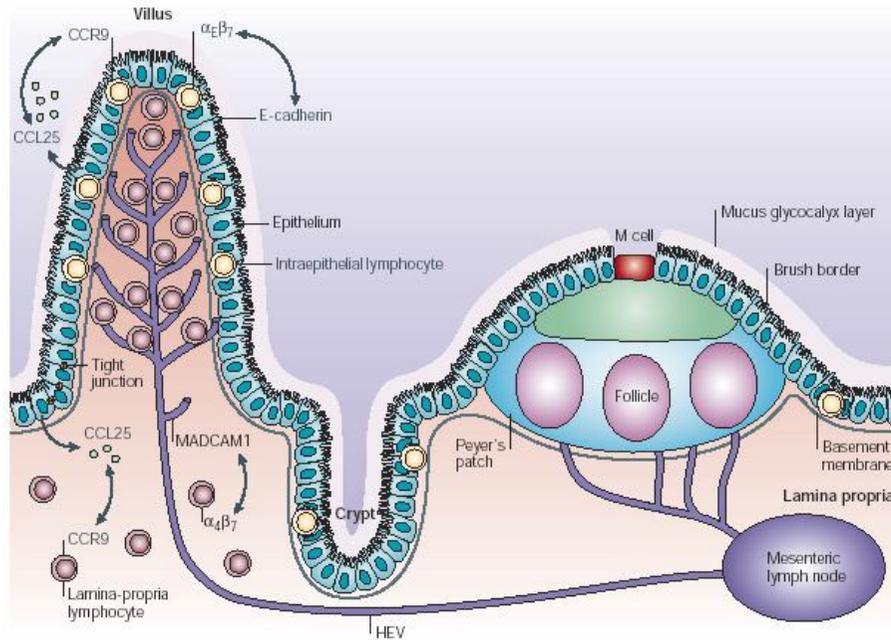
Diarrhée et  
signe haut

**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

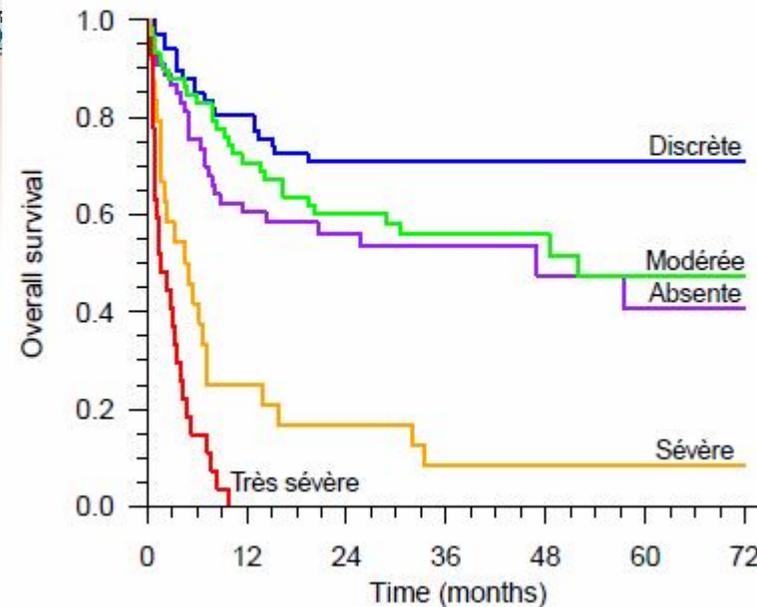
|               |    |    |         |
|---------------|----|----|---------|
| OGD&ileo-colo | 14 | 93 | 70-99,7 |
|---------------|----|----|---------|

# Histology



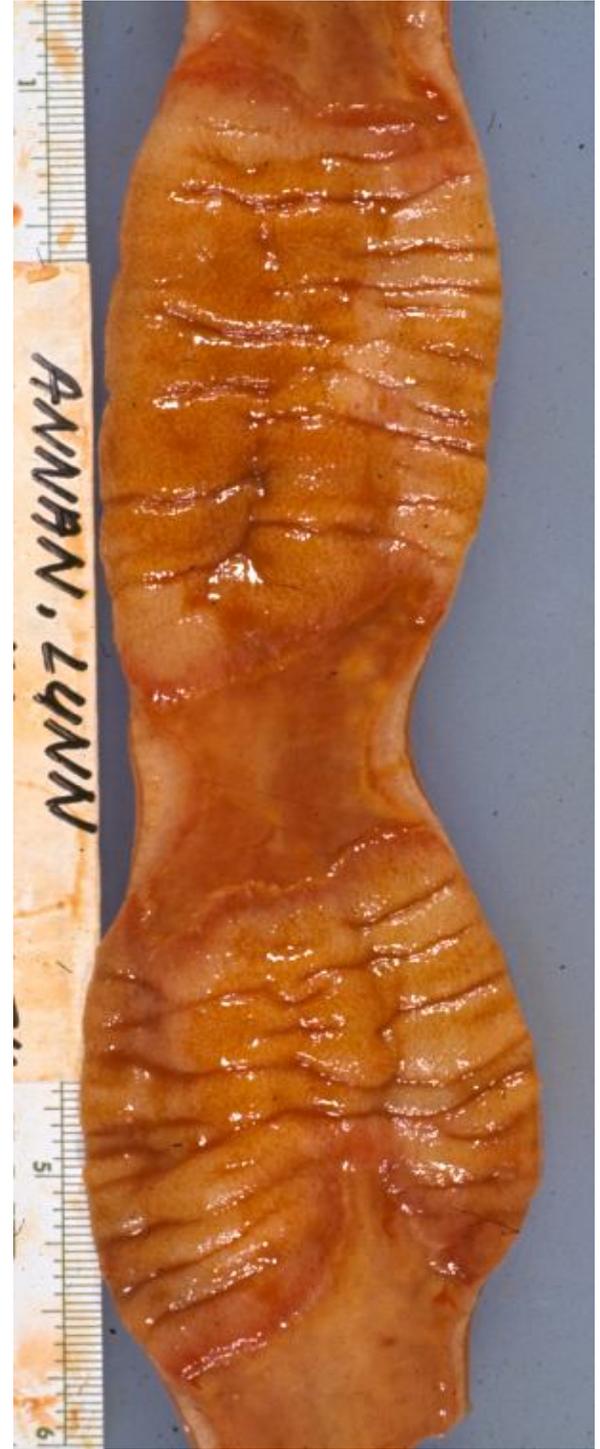
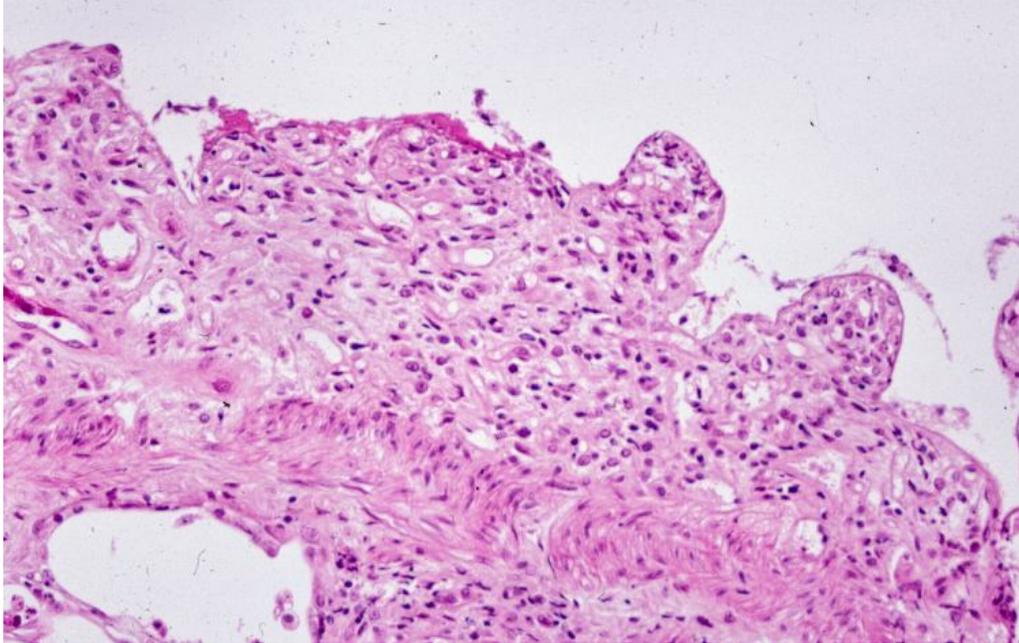
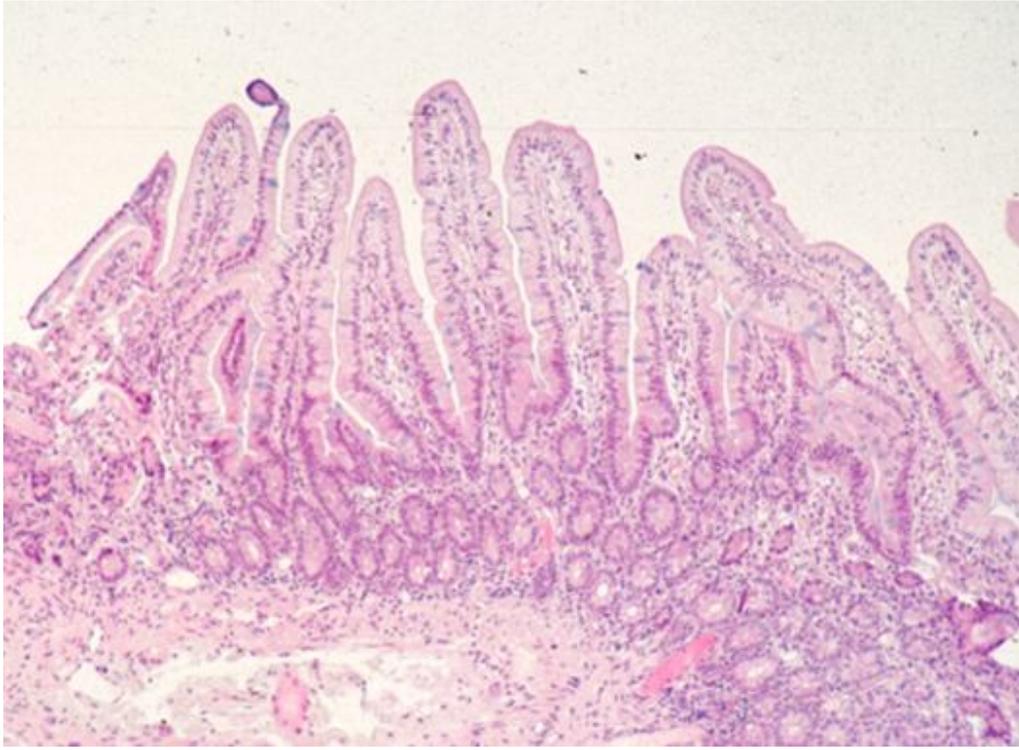
- grade I, crypt cell degeneration or epithelial cell apoptosis, without crypt loss;
- grade II, loss of up to 3 contiguous crypts;
- grade III, loss of 4 or more crypts without sloughing;
- grade IV, total sloughing.

A: histology



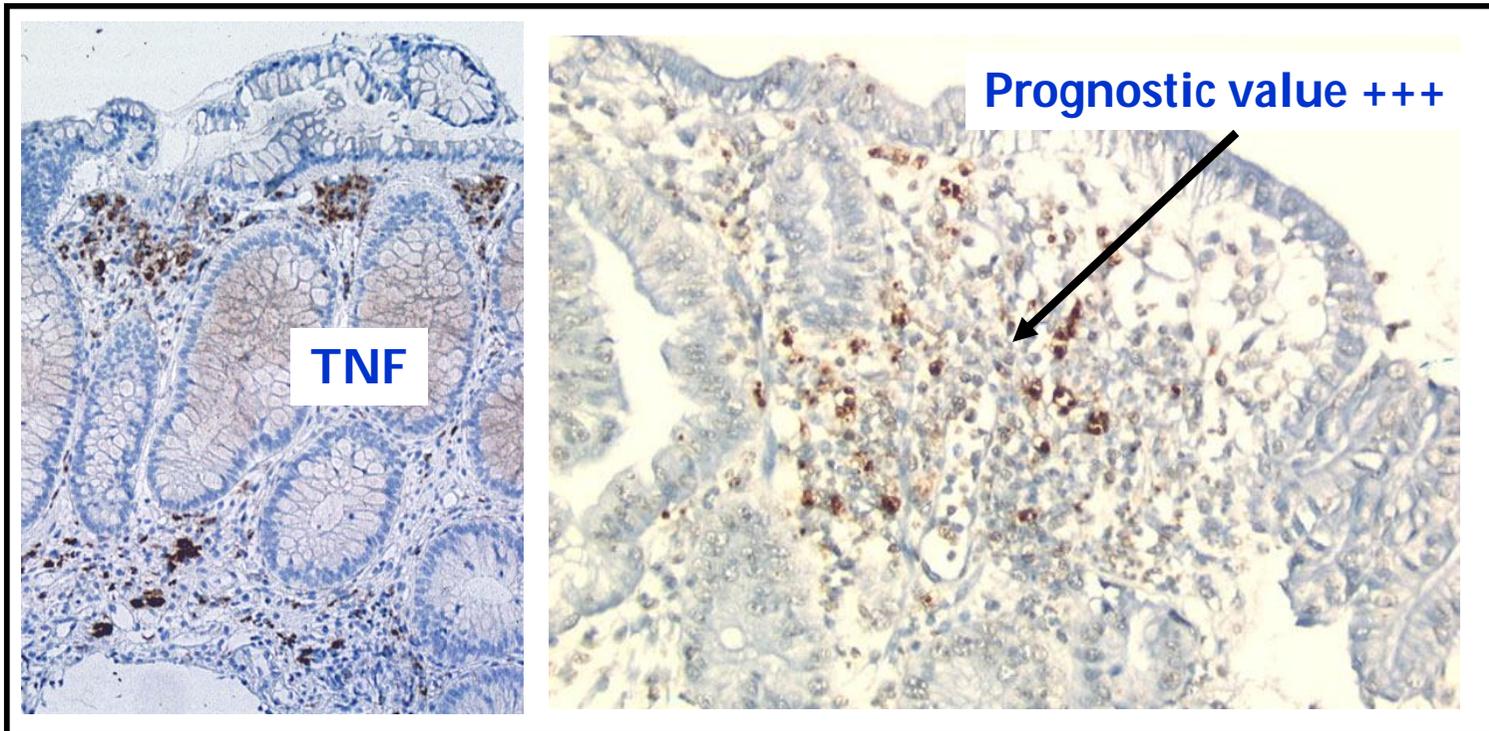
Hôpital Saint-Louis, not published

Sale Am J Surg Pathol 1979. Epstein Gastroenterology 1980

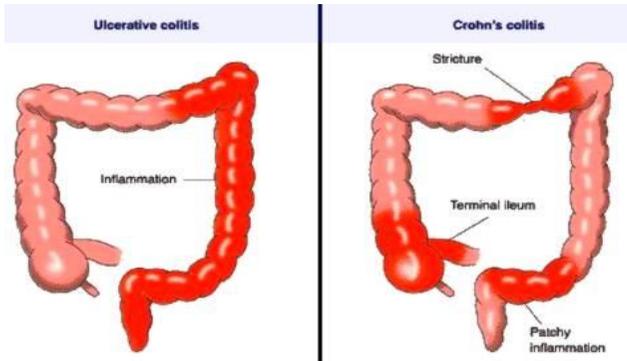


# « Gravité histologique »

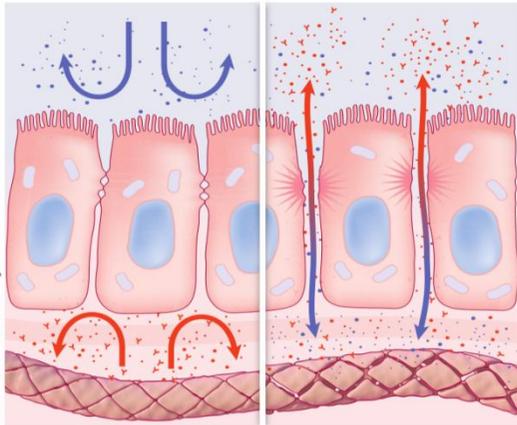
- Grade histo
- Atteinte endothéliale
- Infiltration neutrophiles
- Corps apoptotiques



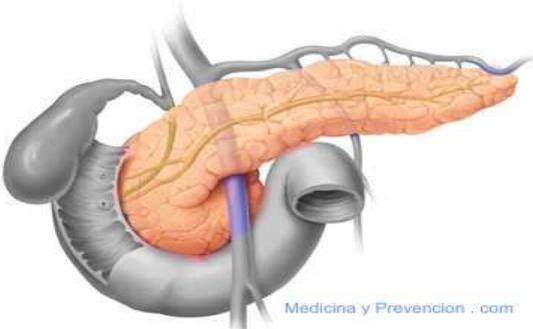
# Coprologie fonctionnelle et diagnostic



**Calprotectine:** Maladies inflammatoires digestives



**Alpha-1-Antitrypsine:** Entéropathie exudative



**Elastase:** Dysfonction pancréatique exocrine

GVH aiguë digestive:  
BIOMARQUEURS



Rodrigues et al. Blood 2012

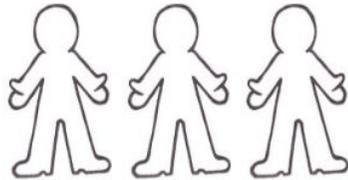
# Objectifs

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

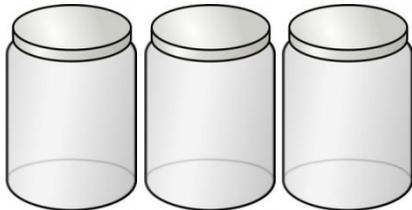
# Patients et Méthodes

## 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:

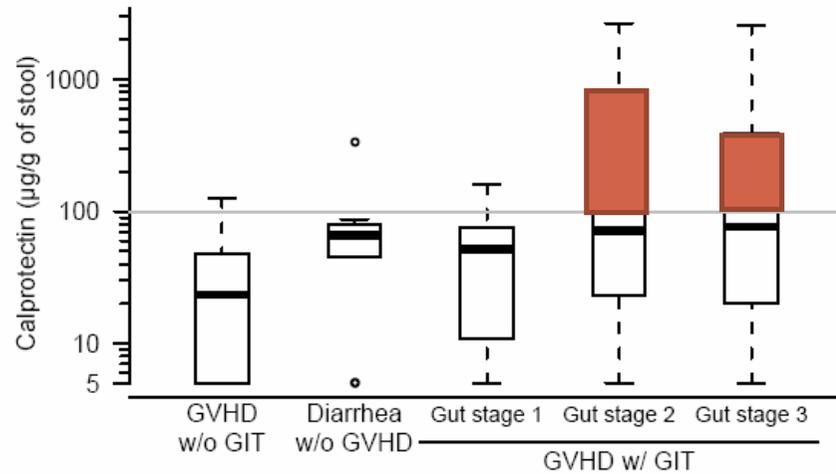


- **Prélèvements des selles** pour analyse microbiologique et dosages calprotectine, alpha-1-antitrypsine et élastase.

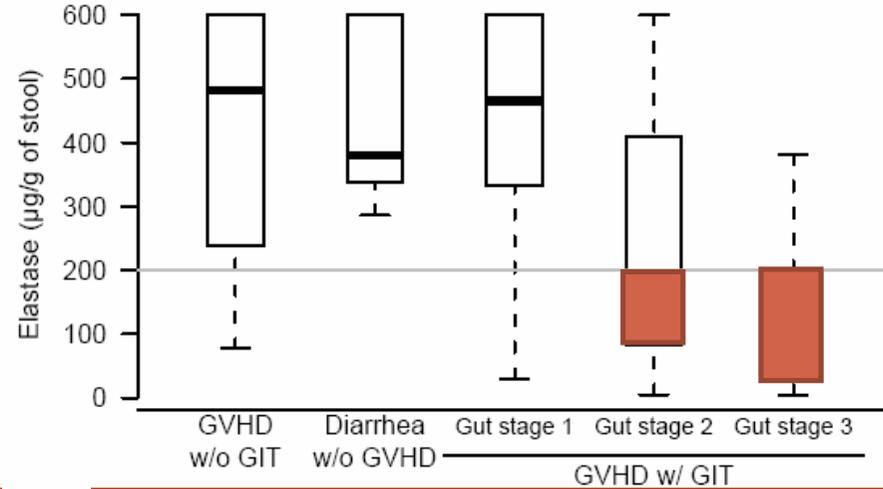
### - **Recueil des données cliniques et biologiques:**

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

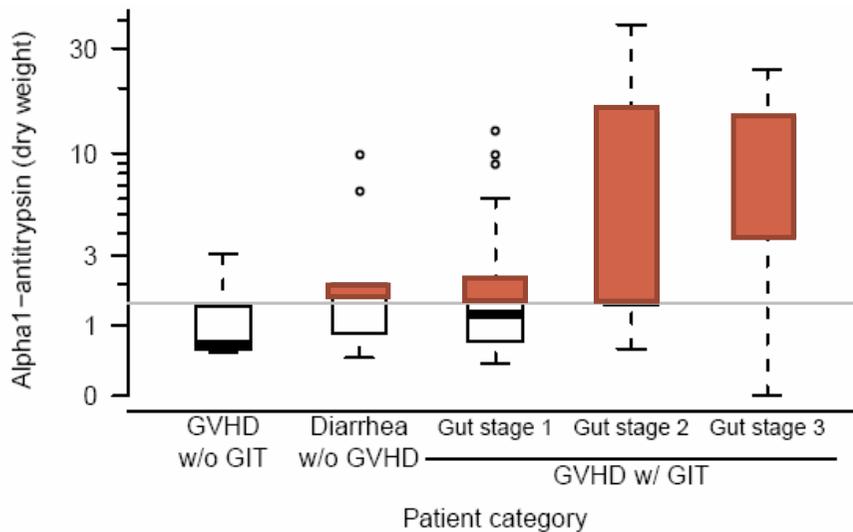
# Résultats: Valeur diagnostique



**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**



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

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

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-Otero<sup>1</sup>, Raphael Porcher<sup>2</sup>, Régis Peffault de Latour<sup>1</sup>, Margarita Contreras<sup>1</sup>, Aliénor Xhaard<sup>1</sup>, Yoram Bouhnik<sup>3</sup>, Anne Janin<sup>5</sup>, Annalisa Andreoli<sup>4</sup>, Patricia Ribaud<sup>1</sup>, Nathalie Kapel<sup>6</sup>, Gérard Socié<sup>1</sup> and Marie Robin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Service Hématologie-Greffe de Moelle. Hôpital Saint-Louis, Paris, France.

<sup>2</sup>Département de Biostatistique et Informatique Médicale. Hôpital Saint-Louis, Paris, France.

<sup>3</sup>Service de gastro-entérologie, Hôpital Beaujon, APHP, Paris, France

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

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

<sup>6</sup>Service 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 | <b>90%</b> (57 - 98) |       | 3 ( <b>17%</b> )   |         |
| 1              | 16 | <b>81%</b> (48 - 94) |       | 9 ( <b>56%</b> )   |         |
| 2              | 14 | <b>53%</b> (21 - 78) | 0.002 | 13 ( <b>93%</b> )  | <0.0001 |

# Cortico-résistance: Modèle Multivarié

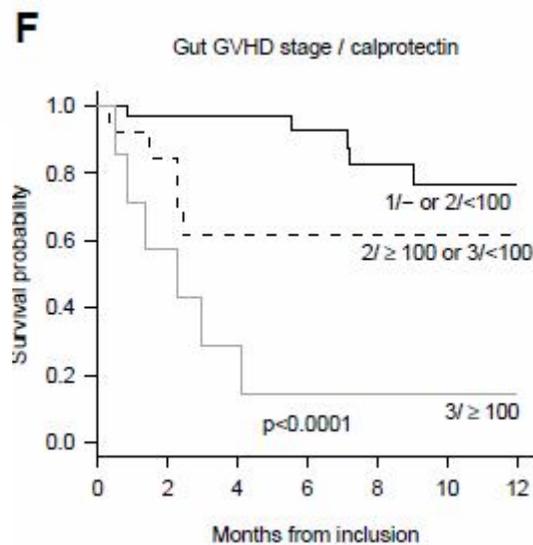
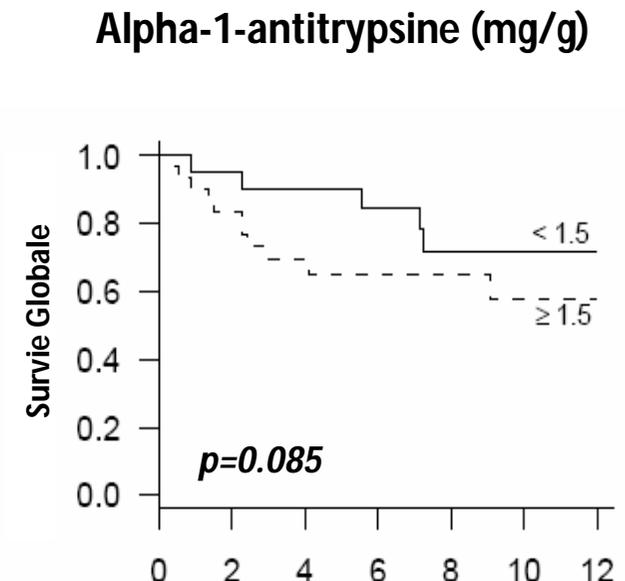
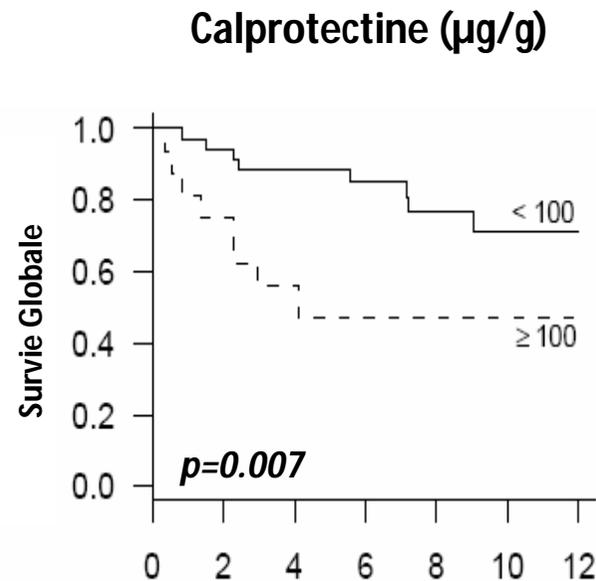
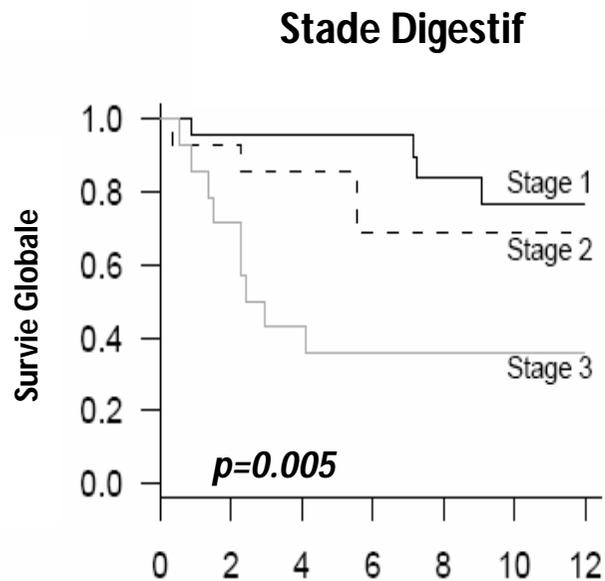
Avec le stade digestif

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

Sans le stade digestif

|  |      |               |       |
|--|------|---------------|-------|
| <b>Calprotectine &gt; 100µg/g</b>        | 15.8 | 1.71 to 146.6 | 0.015 |
| <b>Alpha-1-antitrypsine &gt; 1.5mg/g</b> | 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

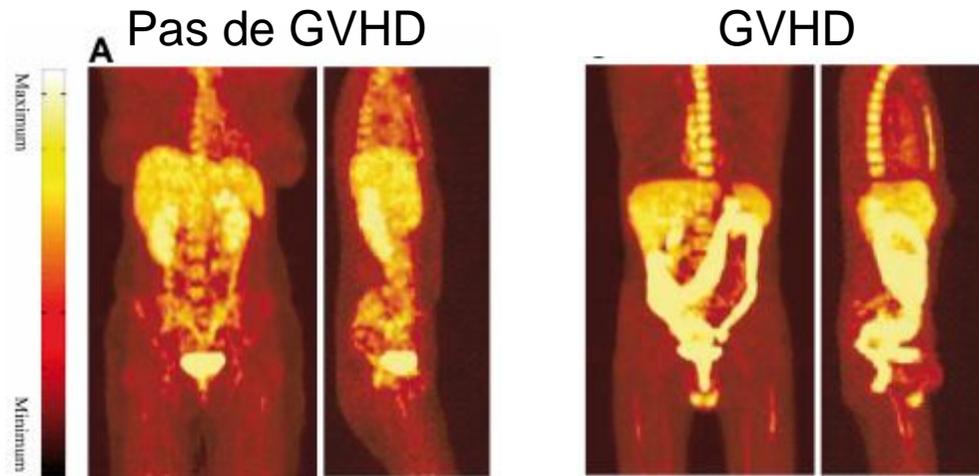
La Calprotectine et l'alpha-1-antitrypsine peuvent être considérés comme des nouveaux marqueurs biologiques fécaux non invasifs dans le cadre de la GVH digestive.

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

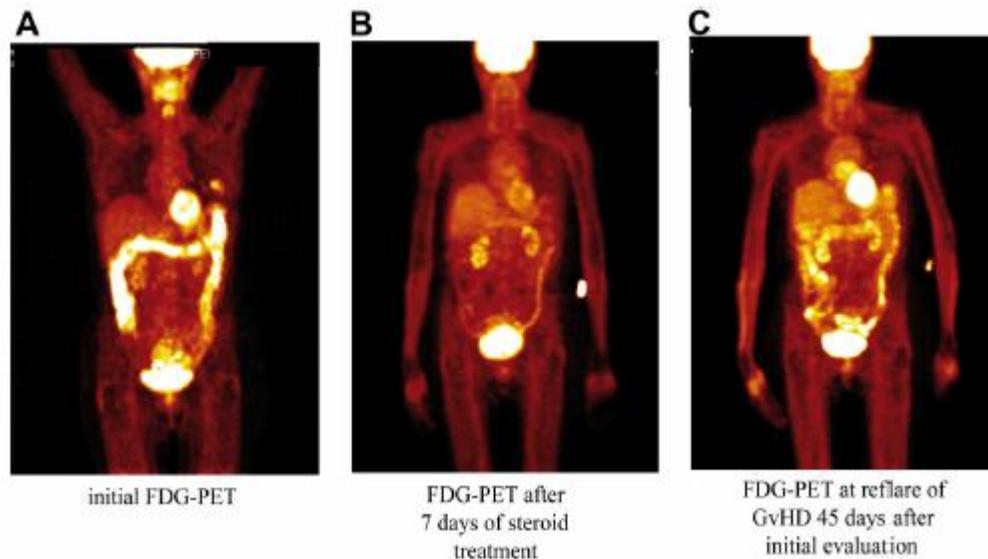
La calprotectine et l'alpha-1-antitrypsine prédisent de façon significative la réponse à la corticothérapie.

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

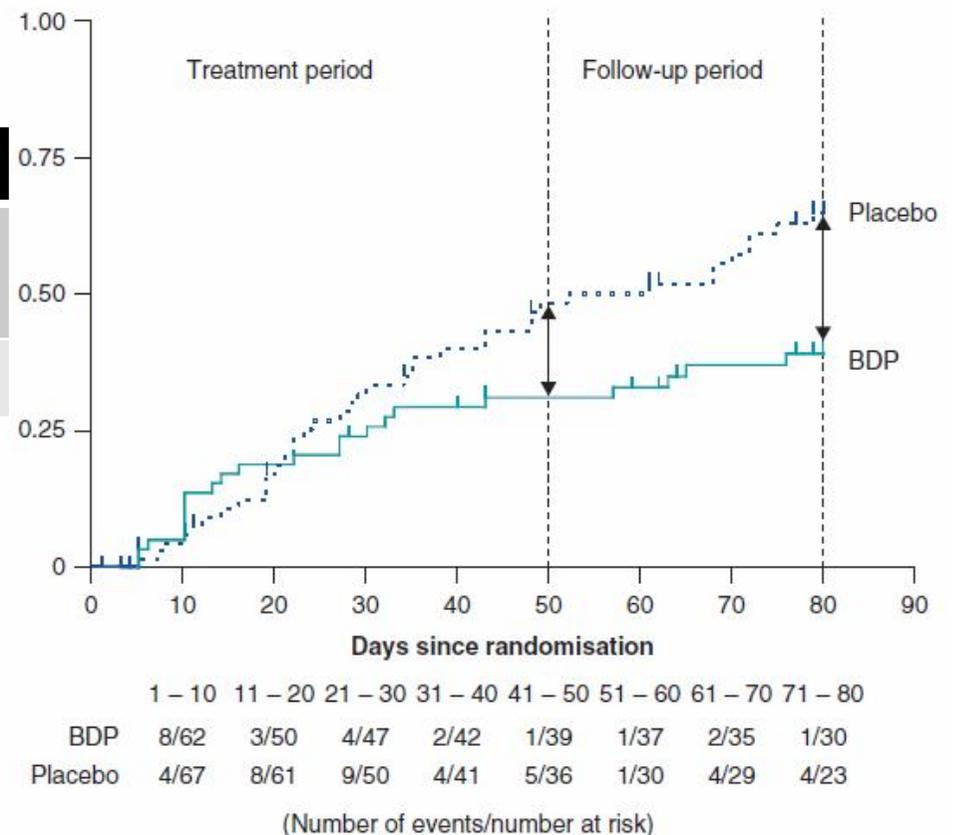
# Traitement de la GVHD digestive

- 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<sup>e</sup> 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]

|                 | <b>Etude 1</b> | <b>Etude 2</b> |
|-----------------|----------------|----------------|
| Taux de réponse | 71% vs 41%     | 61% vs 35%     |
| Survie          | 81% vs 69%     | 71 vs 58%      |

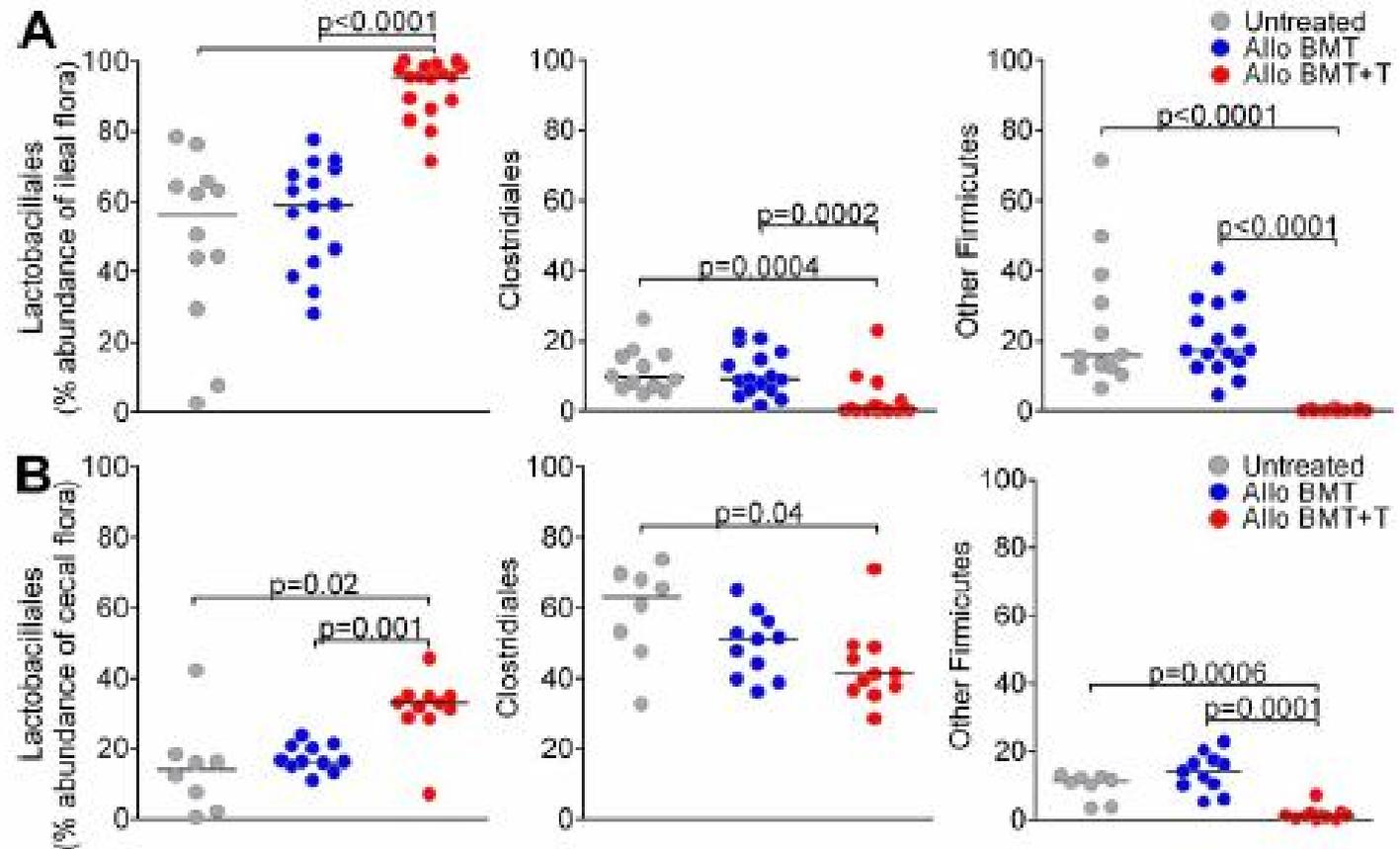


Mac Donald et al Gastroenterology  
1998 & Blood 2007 Hockenbery

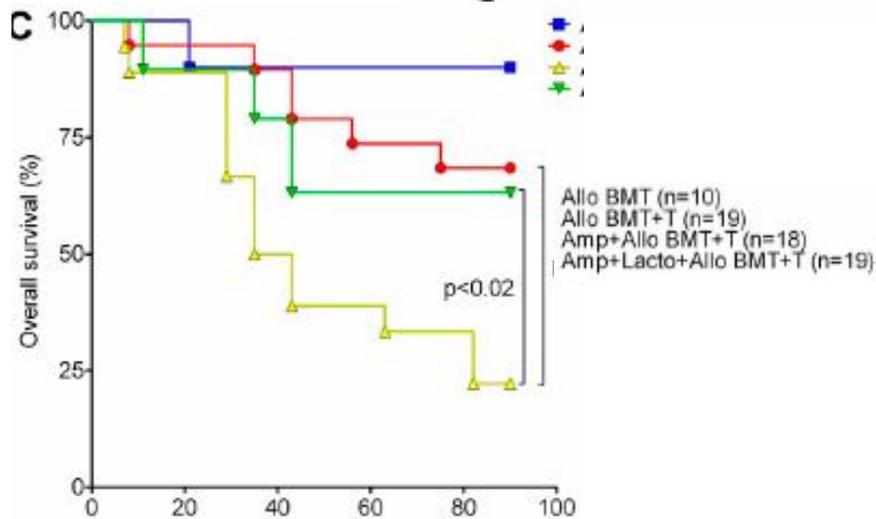
# Facteurs de risque de GVHD digestive

- 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

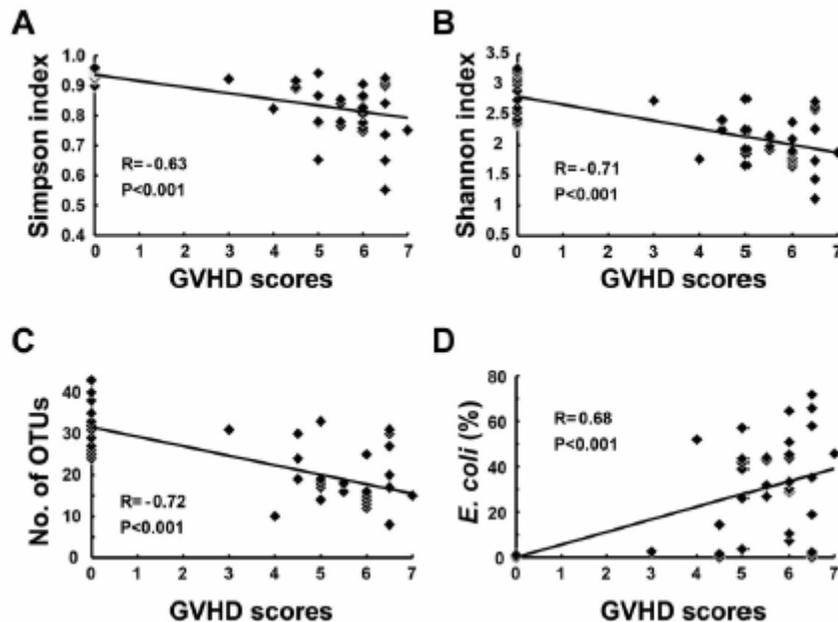
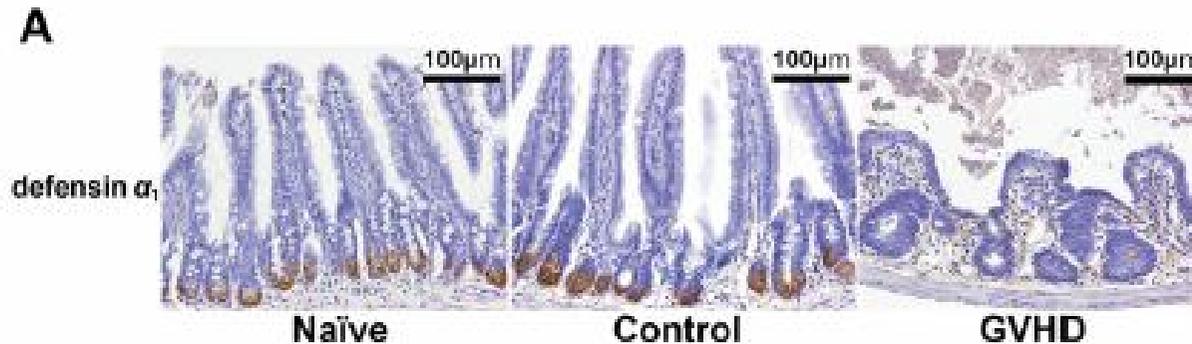


Modification postgreffe du microbiote



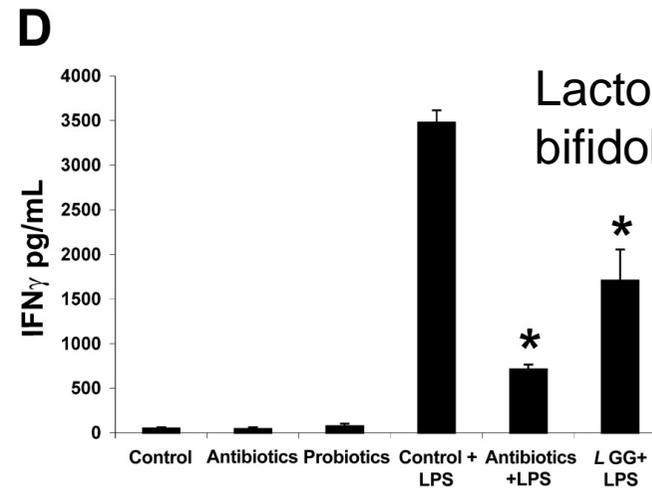
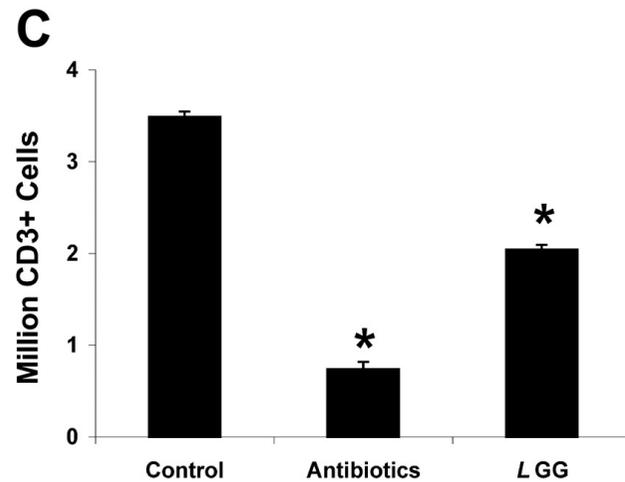
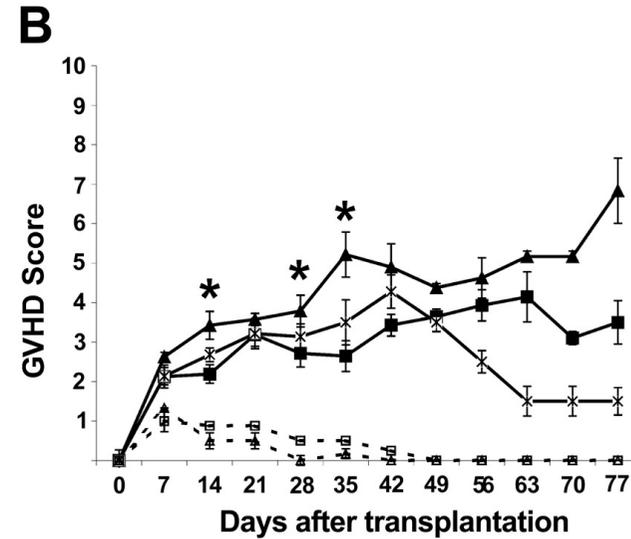
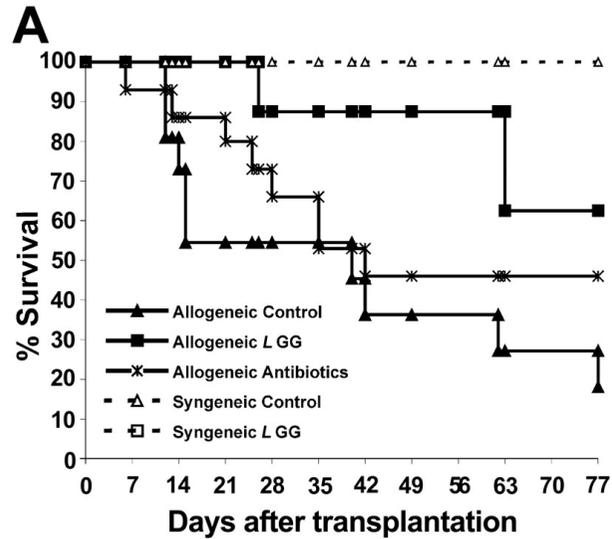
Amélioration de survie (modèle murin)  
selon microbiote (antibiotique)

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



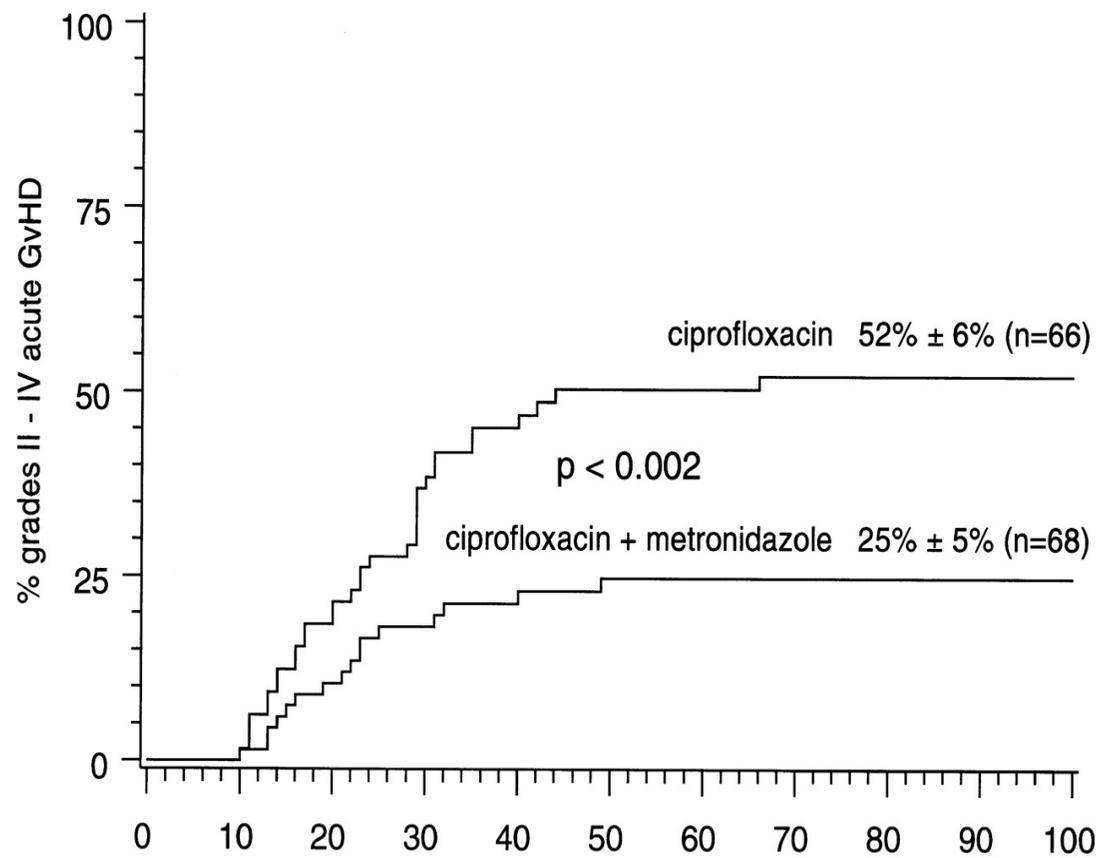
- Corrélation entre le changement microbiote et la gravité de la GVHD
- Perte de diversité
- Emergence de BGN

## 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 $\alpha$ : ANTIMICROBIAL PROTEIN EXPRESSED IN PANETH CELLS

---

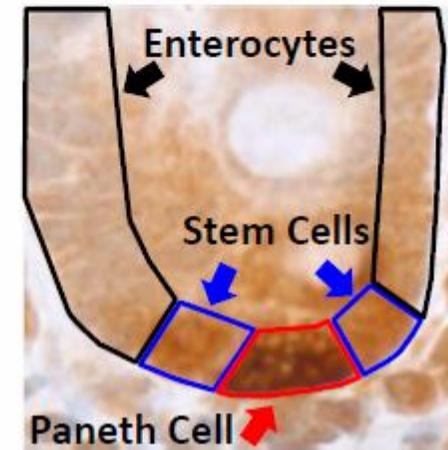
**REG3 $\alpha$  Immunohistochemistry (40X):**

**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 $\alpha$  inhibits NF $\kappa$ B activation induced by TNF- $\alpha$ , decreasing production of inflammatory cytokines and cellular adhesion molecules**

*Gironella et al., Gut 2005*

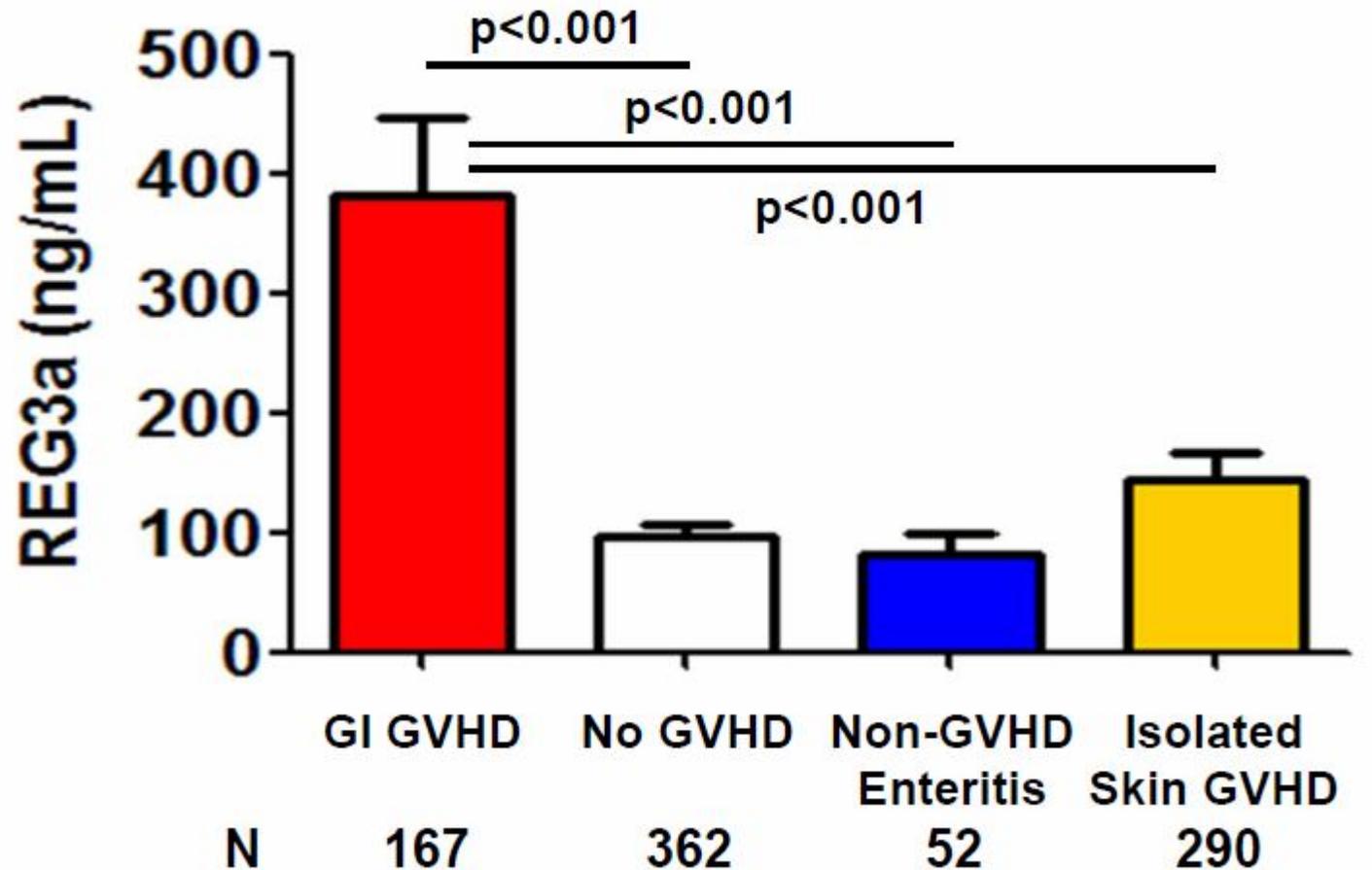
**REG proteins mediate mechanisms downstream of IL-22**

*Zheng et al., Nature Medicine 2008*

Paszesny et al. Personal communication

# REG3 $\alpha$ PLASMA CONCENTRATIONS AT ONSET OF GI GVHD IN 871 UM BMT PATIENTS

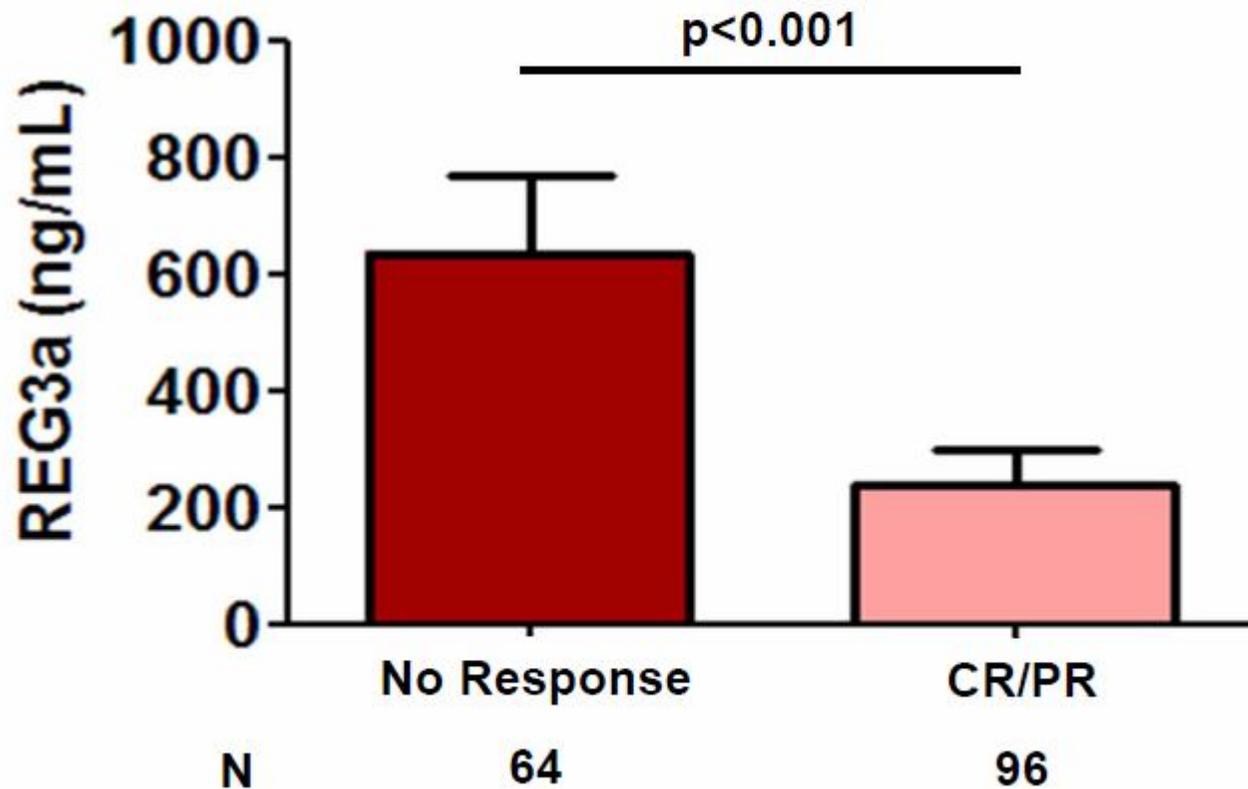
---



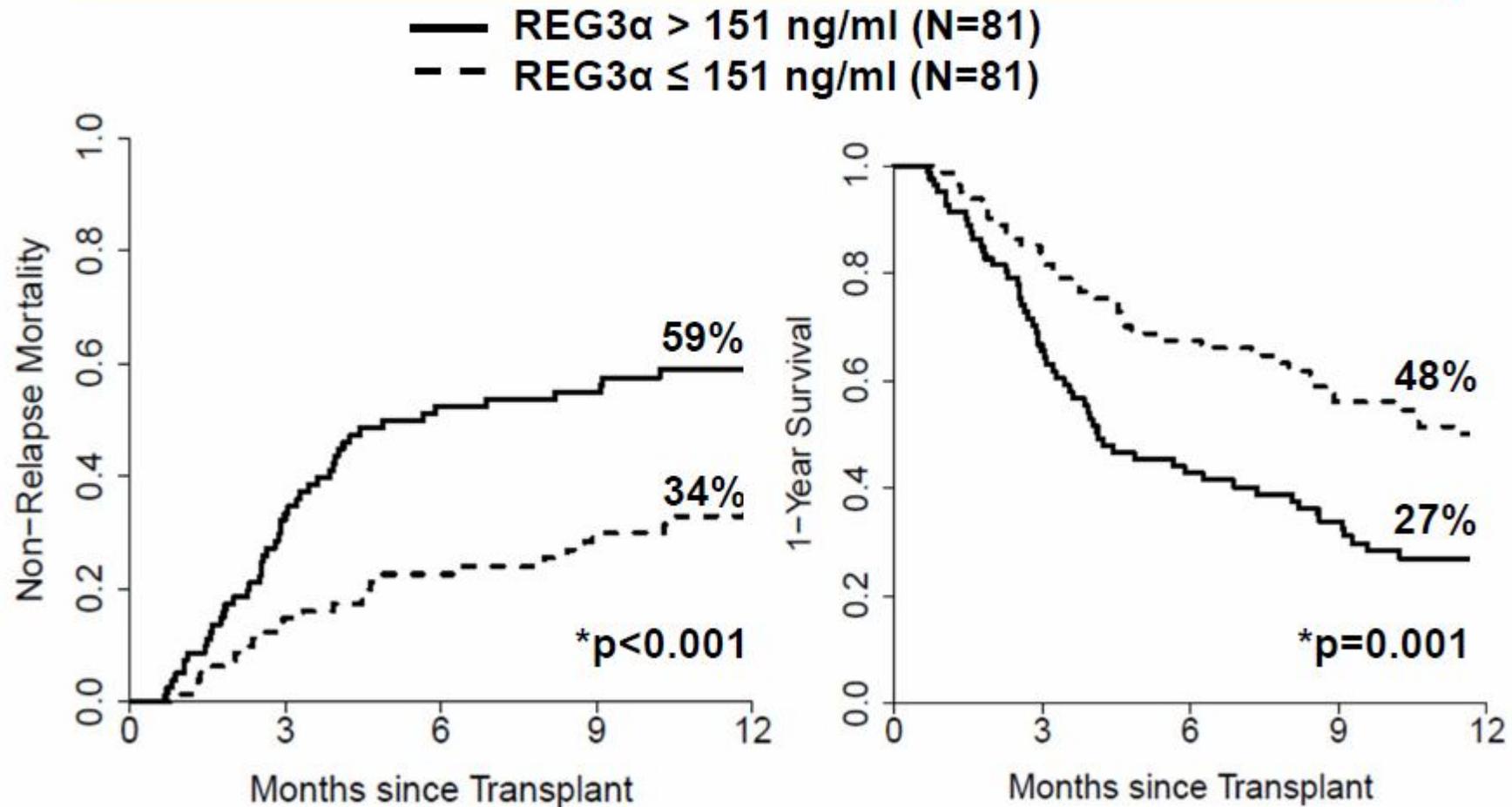
p-values based upon two-sample *t*-test applied to log-transformed values

## REG3 $\alpha$ CONCENTRATIONS AT ONSET PREDICT D28 RESPONSE TO TREATMENT

---



# HIGH REG3 $\alpha$ CONCENTRATIONS PREDICT NRM AND SURVIVAL



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

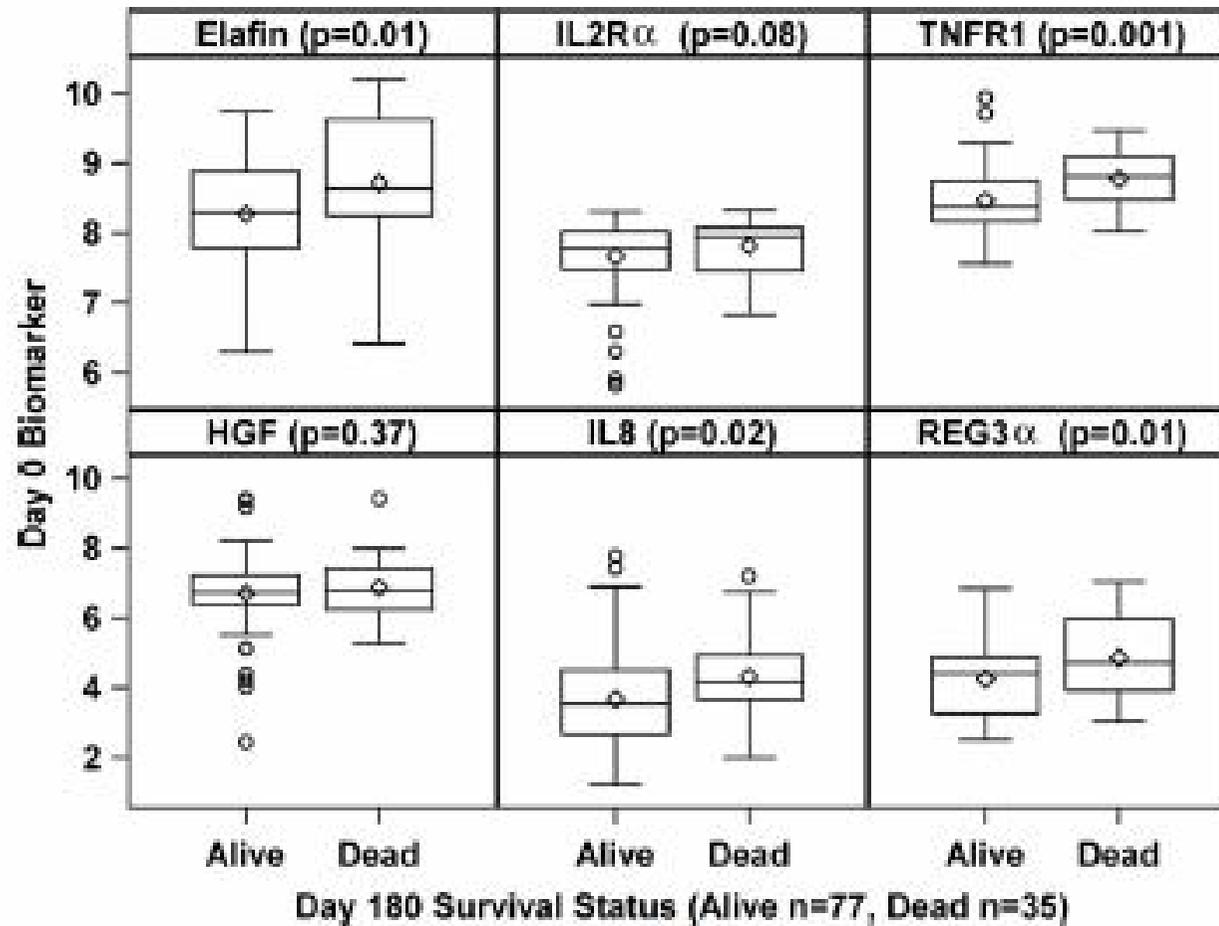


Figure 1. Biomarker concentrations at study entry (day 0) according to day 180 survival status. The boxplots show the range, median, and mean (diamond) graphed on a log-scale for each of the 6 biomarkers measured on day 0 according to the day 180 survival status (alive or dead). *P* values are shown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

