

Etude observationnelle prospective sur la prise en charge des patients en échec et première rechute très défavorable de Lymphomes Hodgkiniens.

HR 2009

PROMOTEUR

A SSOCIATION GELA Gilles SALLES (Trésorier)
CH LYON SUD
69 PIERRE BENITE

Coordination de l'étude :

Investigateur principal : Dr Pauline Brice: GELA : groupe d'étude des lymphomes de l'adulte

Co-investigateur : Dr JP Marolleau : GOELAM : groupe ouest d'étude des leucémies

Coinvestigateur : D Marie Robin (coordonateur allogreffe)

SECRETARIAT CENTRAL - RECUEIL DES DONNÉES :

Secrétariat Intergroupe : GELA (groupe d'étude des lymphomes de l'adulte)

Centre Hayem

Hôpital Saint-Louis, 1 avenue Claude Vellefaux, 75 475 Paris cedex 10.

Téléphone : 01 42 49 98 11

Fax : 01 42 49 99 72

Comité scientifique : Dr Pauline Brice Pierre Feugier et Philippe Quittet (rédacteurs)

Philippe Colombat, Christophe Fermé, Judith Landman-Parker, Noël Milpied, Franck Morschhauser, Oumedaly Reman, Marie Robin, Catherine Sebban, Gérard Socié

INFORMATIQUE ET BIOSTATISTIQUES :

Jean Philippe Jais

Unité d'Information Médicale

Hôpital Henri Mondor, 51 avenue du Maréchal de Lattre de Tassigny, 94010 Créteil.

Téléphone : 01 49 81 72 21

Fax : 01 49 81 29 32

Etude observationnelle prospective sur la prise en charge des patients en échec primaire et première rechute très défavorable des Lymphomes Hodgkiniens.

RÉSUMÉ

| | |
|--|--|
| Etat de la question | les echecs primaires et premières rechutes très défavorables de lymphome de Hodgkin gardent un pronostic réservé et la place des allogreffes à conditionnement atténué n'est pas définie |
| Investigateurs | Dr Pauline Brice, Pierre Feugier , Philippe Quittet, Jean Pierre Marolleau, Marie Robin |
| Centres | Centres : GELA/GOELAM/SFCE |
| Méthode d'observation | Evaluer la survie sans évènements à 2 ans post-inclusion de ces patients très défavorables traités pour les patients chimiosensibles par une double intensification dont la 2° pourra être allogénique si un donneur est identifié |
| Nombre de malades | 150 patients pour avoir 100 patients greffés |
| Population concernée Critères d'inclusion | <ul style="list-style-type: none"> ◆ Lymphome de Hodgkin histologiquement prouvé ◆ 3 situations très défavorables: 1.échec primaire (non mis en rémission par la première ligne) 2.rechute précoce (< 12 mois de la fin du traitement) et disséminée 3. rechute réfractaire à la première ligne de chimiothérapie de rattrapage ◆ malades ayant reçu un traitement de première ligne comprenant des anthracyclines ◆ âgés de 12 à 55 ans, ◆ patient éligible pour un traitement intensif ◆ ayant donné un consentement informé ◆ |
| Critères d'exclusion | <ul style="list-style-type: none"> ◆ histologie à prédominance lymphocytaire nodulaire ◆ Rechute au-delà d'1 an après la fin du traitement ou rechute localisée en zone non irradiée ◆ Patient avec un TEP + après 2 ABVD comme seul critère ◆ Patient ayant reçu une autogreffe ◆ Stade I A favorable initial ◆ Patients traités par radiothérapie seule en première ligne ◆ Sérologie VIH positive ◆ Pathologie évolutive ◆ Femmes enceintes ◆ Patient « majeur protégé par la loi » |
| TYPAGE HLA | Dès le diagnostic de rechute très défavorable ou d'échec primaire et interrogation du fichier de donneurs de moëlle en l'absence de donneur familial. Le patients est alors préinclus dans l'étude à l'aide de la fiche 1 |
| PRÉSELECTION Traitement d'induction | Ce traitement est laissé libre et doit être choisi en fonction du traitement de première ligne et de la dose totale de doxorubicine reçue, le but est d'obtenir une chimiosensibilité avant l'intensification. La Darbopoiétine alpha est débutée dès que l'Hb est inférieure à 12g/dl à la dose de 500µg toutes les 3 semaines. |
| | Les patients en réponse < 50% malgré 2 ou 3 associations de chimiothérapie ne reçoivent pas de greffe |

| | |
|--|--|
| | |
| Mobilisation des cellules souches | Le recueil de cellules souches périphériques (CSP) aura lieu après une cure de chimiothérapie sous GCSF (Filgrastim ^o) (en l'absence d'envahissement médullaire), le minimum à recueillir est 6×10^6 /CD34/kg. |
| INCLUSION | Tous les patients en réponse d'au moins 50% après chimiothérapie auront une TEP (tomographie par émission de positrons) avant l'intensification et seront inclus dans l'étude à l'aide de la fiche 2. |
| Intensification N°1 | N°1 par BEAM (BCNU 300mg/m ² , etoposide 800 mg/m ² , cytarabine 800mg/m ² et melphalan 140 mg/m ²) suivie de la réinjection de la moitié des cytophèreses. |
| Intensification n°2 | Elle intervient entre J 45 et J60 de la première En l'absence de donneur HLA compatible BAM6 : Aracytine 6g/m ² , Melphalan 140 mg/m ² et Busulfan IV : 3.2 mg/kg x 3 jours) puis réinjection des CSP (ou TAM6 pour les patients non irradiés avec irradiation corporelle totale à 12 Grays en 6 fractions) En présence d'un donneur HLA compatible familial ou 10/10 sur fichier: allogreffe conditionnée par le protocole suivant Fludarabine 30 mg/m ² x 4 jours et Busulfan IV 0.8 mg/kg x 4 jours |
| Bilan de fin de traitement | 3 mois après la dernière intensification Suivi clinique et biologique : tous les 3 mois la première année, puis tous les 6 mois pendant 5 ans Tomodensitométrie tous les 6 mois pendant 2 ans puis tous les ans pendant 3 ans |
| Durée de l'étude | Date de début juin 2009 Date de fin juin 2014 |
| Analyse des données | Les investigateurs doivent faxer les 2 fiches d'inclusion et préinclusion puis il leur suffit d'envoyer les compte rendu d'hospitalisation des greffes et les lettres de suivi en consultation. Les données recueillies seront anonymisées. |

Etude de cohorte prospective sur la prise en charge des patients en échecs et premières rechutes très défavorables de lymphomes Hodgkiniens (LH). HR 2009

1. Introduction

L'élaboration du projet de cette étude prospective de cohorte de patients en rechute de LH résulte de :

- L'identification de facteurs prédictifs du pronostic, au moment de la rechute, permettant de sélectionner les patients très défavorables
- Les résultats du précédent protocole de rechute ayant inclus 245 patients dont 150 très défavorables et 105 qui ont eu une double intensification.
- Les données de la littérature sur les allogreffes à conditionnement atténué qui sont de plus en plus utilisées

L'impossibilité actuelle de faire des protocoles de recherche biomédicale sur le sujet nous a incité à proposer cette étude prospective de cohorte sur des soins couramment administrés aux patients en rechute de LH

2. Objectifs :

2.1 Objectif principal

- **survie sans évènements à 2 ans post-inclusion (l'évènement est le décès quel qu'en soit la cause, la rechute pour les patients répondeurs, la progression pendant et après le traitement)**

2.2 Objectifs secondaires :

- faisabilité d'une procédure de double intensification mesurée par le nombre de patients recevant la procédure complète sur le nombre de patients inclus

- évaluer la faisabilité d'une allogreffe chez des patients présentant un lymphome de hodgkin avec un donneur HLA compatible
- la survie globale à 5 ans post-inclusion
- la toxicité des procédures thérapeutiques de greffes
- évaluer l'efficacité de l'introduction précoce de la darbopoiétine sur les transfusions
- efficacité du pegfilgrastim sur la reconstitutions post autogreffe

3. Rationnel

3.1 Facteurs pronostiques

Les progrès thérapeutiques accomplis en 25 ans ont transformé le lymphome hodgkinien en une affection potentiellement curable dans la majorité des cas. Deux situations compromettent cependant le pronostic : les échecs primaires et les rechutes (9). La situation d'échec primaire est communément reconnue comme étant de pronostic très défavorable les patients réfractaires au traitement initial ayant

une espérance de survie à long terme inférieure à 30 % même après traitement intensif (4). Trois facteurs pronostiques pour les rechutes de LH ont pu être dégagés de façon reproductible (6, 16,19,24) : la précocité de la rechute définie par une durée de rémission complète inférieure à 1 an, la présence de symptômes B lors de la rechute, un stade IV initial. Le caractère chimiorésistant de la rechute avant intensification constitue par ailleurs un facteur de mauvais pronostic (1, 15).

3.2.Rationnel des chimiothérapies d'induction : la chimiothérapie d'induction est libre le but étant d'amener le patient à une chimiosensibilité afin de recevoir les intensifications. Le MINE dans les échecs des patients inclus dans le H89 donne un taux de réponse de 75% (14) ce taux est plus important dans les rechutes et réponse partielles que chez les patients réfractaires et proche de l'ICE (19). Dans le protocole H96.3 le taux de réponse à la chimiothérapie d'induction étaient identiques après IVA ou MINE mais étaient différents selon le type de rechute (61% pour les patients de très haut risque versus 96%)(18).

3.3 Rationnel des intensifications :

Patients réfractaires : la survie sans progression de tels patients traités par BEAM suivie d'autogreffe est de l'ordre de 25-30% à 5 ans dans une étude rétrospective de la SFGM (4). La démonstration de la supériorité de l'autogreffe sur le rattrapage conventionnel a été confirmée dans l'étude des échecs du H89 (14) et l'étude randomisée allemande où la survie sans progression à 3 ans est à 55% pour le bras autogreffe versus 34% pour le bras conventionnel intensif mais sans bénéfice sur la survie (23).

Les séries prospectives sont rares et l'étude du MSK sur 65 patients retrouve sur les patients ayant au moins 2 facteurs péjoratifs (signes B, atteinte extra nodale ou rechute précoce donc proche de notre groupe de très mauvais risque) l'EFS à 4 ans est à 27% en intention de traiter (19). Ces résultats justifient la poursuite du programme de double intensification où l'EFS est à 46% en intention de traiter (7).

Protocole précédent : entre janvier 98 et décembre 2002: 200 patients ont été inclus dans le protocole et 51 enregistrés en pilote. Les patients ont été stratifiés sur les facteurs péjoratifs suivants: - intervalle fin de traitement-rechute inférieur à 12 mois, - stade III/IV ou rechute en territoire préalablement irradié. Ainsi 2 groupes ont été constitués de très mauvais risque avec 2 facteurs ou de risque standard avec un seul facteur. Au total 251 patients en première rechute ont été enregistrés au secrétariat de l'étude et une analyse sur 245 patients a pu être faite en 2007. A 5 ans en intention de traiter la survie sans événement est à 46% dans le groupe de très mauvais risque et de 73% dans le groupe de risque standard et la survie respectivement à 57 et 85% (18).

3.3 Rationnel de l'allogreffe à conditionnement atténué :

Pour tenter d'améliorer ces résultats, une greffe allogène lors de la 2^{ème} intensification peut être faite car des résultats prometteurs en rétrospectifs puis prospectifs ont été publiés avec des conditionnements atténués dans des LH (2,3, 20). Carella *et al* ont rapporté en 2000 une phase pilote de 10 patients porteurs d'une maladie de Hodgkin de mauvais pronostic traités par une autogreffe puis une

allogreffe à conditionnement atténué (9). Le groupe lymphome de l'EBMT a publié 168 patients qui avaient un LH, 89 ont eu un conditionnement atténué (RIC) et 79 un conditionnement myéloablatif (25). La mortalité liée à la transplantation (TRM) diminue dans le groupe RIC de façon significative (HR à 2.85) et la survie globale à 5 ans est meilleure dans ce groupe 28 vs 22% mais reste faible. Une deuxième publication de l'EBMT rapportée en 2009, analyse les résultats de l'allogreffe à conditionnement atténué pour 285 patients. La mortalité non liée à la rechute est basse à environ 20% et la survie à long terme est de 30%. Le groupe espagnol a rapporté une série prospective de 40 patients avec une TRM à 1 an de 25% et une PFS à 2 ans de 32% (21).

4. Critères d'inclusion

4.1 Critères d'inclusion

- Lymphome de Hodgkin histologiquement prouvé en progression dans trois situations considérées comme très défavorables :
 - *.échec primaire (non mis en rémission par la première ligne de chimiothérapie avec évaluation à 4 cures) (NB les patients avec un TEP positif après 2 cures d'ABVD ne sont pas concernés)
 - * rechute précoce (< 12 mois de la fin du traitement) et disséminée ou en zone irradiée à 30 grays ou plus
 - * rechute réfractaire à la première ligne de chimiothérapie de rattrapage.
- Patient ayant lu la notice d'information

4.2. Critères de non inclusion :

- Age > 56 ans.
- LH en rechute tardive (> 1 an après la fin du traitement) ou localisée (stade I/II)
 - stade I A favorable initial
- histologie : forme à prédominance lymphocytaire nodulaire
- patient ayant reçu une autogreffe
- Insuffisance cardiaque symptomatique avec FEVG < 40%
- Insuffisance respiratoire chronique
- psychose grave ou patient sous tutelle
- Insuffisance rénale sévère connue antérieurement, non liée à la maladie :
 - créatininémie supérieure à 150 µmol/l;
- Cirrhose hépatique et insuffisance hépato-cellulaire non liée au processus tumoral;
- Antécédents de cancer de moins de 5 ans sauf basocellulaire ou col non invasif
- Patients ayant une sérologie VIH+
- Patient ne pouvant pas être astreint à une surveillance régulière
- Femme enceinte ou allaitant

| |
|---|
| Typage HLA familial dès le diagnostic de rechute très défavorable et interrogation du fichier international en l'absence de donneur familial et préinclusion dans le protocole par fax |
|---|

5. Traitement

5.1 Chimiothérapie de réduction tumorale:

Les patients recevront une chimiothérapie d'induction décidée par le médecin responsable en fonction des traitements reçus au préalable. Les cures sont faites sous couvert de *Filgrastim* : délivré pendant 5 jours et/ou jusqu'au cytophèreses. La Darbopoiétine alpha est utilisée à la dose de 500 µg toutes les 3 semaines dès que le taux d'hémoglobine est inférieur à 12g/dl (26).

Une prophylaxie de la pneumocystose et des infections herpétiques est recommandée.

5.2 Evaluation clinique après 2 -3 cycles d'induction

L'évaluation précoce (clinique, biologie, TDM et TEP) permet de détecter les patients progressifs, en réponse minimale inférieure à 50%. Les patients en réponse < 50 % après les 2 cycles d'induction ou en progression au cours du traitement d'induction ne reçoivent pas la première intensification. Une deuxième ligne de chimiothérapie de rattrapage différente peut leur être proposée.

5.3 Cytaphérèses

Elles sont faites le plus précocement possible si la biopsie médullaire est normale ou dès la normalisation de cette dernière. La collection de cellules souches périphériques est réalisée dès la sortie d'aplasie qui suit un cycle d'induction sous couvert de *Filgrastim* donné à J3 (17).

La richesse du greffon en progéniteurs doit être suffisante pour permettre la réalisation d'une double intensification ($CD34 > 6.10^6/kg$). Si le greffon est insuffisamment riche après mobilisation par chimiothérapie et *Filgrastim* puis *Filgrastim* seul double dose, la possibilité de l'améliorer par un recueil supplémentaire d'un greffon médullaire doit être envisagée.

5.4 Bilan d'évaluation (10, 11)

tous les sites de progression seront évalués par tomодensitométrie, les patients auront un bilan biologique complet et une TEP avant l'intensification n°1 pour les patients en réponse > 50% sur le TDM.

Les patients en réponse inférieure à 50% recevront une 2° ligne de chimiothérapie et les patients progressifs sur le scanner même après 2 lignes de chimiothérapie ne recevront pas de greffe

5.5 Intensification n°1 : BEAM

. L'intensification ne sera faite que chez les patients ayant montré une réponse à la chimiothérapie d'au moins 50% ou une masse tumorale faible (adénopathies inférieures à 2 cm sur le TDM) quel que soit le résultat de la TEP. Le premier conditionnement est une chimiothérapie intensive de type BEAM (Hodgkin) (12) selon le schéma suivant :

| BEAM Jours | | -5 | -4 | -3 | -2 | -1 | 0 | |
|----------------------------------|-----------------------|----|----|----|----|----|---|---|
| BCNU | 300 mg/m ² | | x | | | | | |
| VP16 | 200 mg/m ² | | x | x | x | x | | |
| Aracytine | 200 mg/m ² | | x | x | x | x | | |
| Melphalan | 140 mg/m ² | | | | | | x | |
| Réinjection des cellules souches | | | | | | | | x |

Le greffon injecté doit comporter plus de 3.10^6 CD34/kg. L'administration de *Pelfigrastim* est recommandée à partir du J5. La Darbepoietine alpha est poursuivie tant que le taux d'hémoglobine est inférieur à 12g/dl .

Une prophylaxie de la pneumocystose et des infections herpétiques est recommandée. Des antibiotiques seront administrés par voie IV dès que la température sera $> 38^{\circ}5$ pendant la période de neutropénie.

5.6 évaluation avec tepscan et TDM :

La TEP est faite 30 à 45 jours après l'intensification N°1, les patients progressifs avec une majoration de la fixation au tepscan la 2° intensification est annulée.

5.7 Intensification n°2 : le second traitement intensif débute de J45 à J60 de la première autogreffe, si les conditions suivantes de réalisation sont réunies :

indice de performance ≤ 2 (selon l'échelle ECOG)

absence de pathologie infectieuse évolutive,

absence d'insuffisance rénale (créatininémie $<$ à 150 $\mu\text{mol/L}$),

absence d'hépatopathie (transaminases et/ou phosphatases alcalines $<$ à 3N),

absence de dysfonction du ventricule gauche (fraction isotopique d'éjection $<$ 50% ou fraction de raccourcissement $<$ 30%).

absence de progression tumorale et RP $>$ 50% sur le TDM

La deuxième intensification peut être différée jusqu'à J90, jusqu'à l'amélioration des paramètres cliniques et biologiques sus-cités.

AUTOGREFFE : BAM6 (ou TAM6) en l'absence de donneur allogénique.

Le conditionnement BAM6 associe Aracytine et Melphalan avec du Busulfan IV : 9.6 mg/kg en dose totale à raison de 3.2 mg/kg par jour (0.8 mg/kg x4/ jour) pendant 3 jours (soit 12 injections de 2 heures de 0.8 mg/kg).

| BAM 6 | | Jours -7 | -6 | -5 | -4 | -3 | -2 | -1 | 0 |
|--------------------------------|-----------------------|----------|----|------|------|------|-----|----|---|
| Aracytine | 2g/m ² | | | | | x | | | |
| et | 2g/m ² x 2 | | | | | | x x | | |
| Alkéran | 140 mg/m ² | | | | | | | x | |
| Busulfan IV | 0.8 mg/kg x 4 | | | xxxx | xxxx | xxxx | | | |
| Injection des cellules souches | | | | | | | | | x |

Le rationnel de l'utilisation IV repose sur la meilleure biodisponibilité et la possibilité d'avoir moins de maladie veinoocclusive.

Les patients n'ayant pas été irradiés peuvent recevoir une irradiation corporelle totale (ICT) à 12 Grays en 6 fractions sur 3 jours à la place du Busulfan.

L'administration de *Peligrastim* est recommandée à partir du J5 (22). La Darbepoetin alpha sera poursuivie tant que le taux d'hémoglobine sera inférieur à 12 g/dl à la dose de 500µg/3 semaines. Si elle a été arrêtée après remontée du taux d'hémoglobine, elle sera reprise dès que le taux d'hémoglobine sera à nouveau inférieur à 12g/dl.

Le greffon injecté doit comporter un minimum de 3.10^6 CD34/kg.

Une prophylaxie de la pneumocystose et des infections herpétiques est recommandée

Sont laissées à l'appréciation du clinicien,:

- les modalités de prophylaxie de la maladie veino-occlusive,
- l'antibiothérapie des poussées fébriles
- les NFS de surveillance

ALLOGREFFE : Busulfan fludarabine

a) Donneurs :

L'allogreffe est envisageable si :

▸ **Donneur HLA identique familial**

▸ **Donneur non apparenté avec :**

Identité allélique 10/10^{ème}

Les greffes à partir de sang placentaire ne sont pas envisagées dans ce protocole.

b) Conditionnement Allogreffe (5):

| JOURS | -5 | -4 | -3 | -2 | -1 | 0 | | | |
|---|----|----|----|----|----|---|--|--|--|
| BUSULFAN IV 0.8 mg/kg | X | X | X | X | | | | | |
| FLUDARABINE IV 30 mg/m² | x | x | x | x | | | | | |
| | | | | | | | | | |

Fludarabine : 30 mg/m²/jour x 4 jours (dose totale = 120 mg/m²) (I.V. 1 heure)

Busulfan : 0.8 mg/kg/jour x 4 jours (dose totale = 3.2 mg/kg) (I.V. 2 heures)

Place du SAL

Pas dans les greffes géno-identiques.

Non recommandé mais toléré :

Si le choix du SAL est fait en situation non apparentée, les doses recommandées sont inférieures à :

SAL Frésenius : 45 mg/kg ou THYMOGLOBULINE 10 mg/kg doses totales.

c) Greffon : cellules souches périphériques (moelle tolérée).

Doses recommandées :

- Cellules souches périphériques 3 à 7 x 10⁶ CD34/kg.
- Moelle > 2 x 10⁶ CD34/kg ou/et ≥ 3 x 10⁸ cellules nucléées/kg.

Collection de cellules souches périphériques :

Celle-ci sera réalisée après mobilisation par G-CSF à la dose de 10 µg/kg/jour en 2 injections par jour. La collection n°1 aura lieu le 5^{ème} jour du G-CSF.

d) Prophylaxie de la GvH

1. Ciclosporine A :

3 mg/kg/jour à partir de J₋₁, I.V. continue 24 heures (taux sérique d'équilibre = 300 ng/ml).

Relais oral dès que possible.

A poursuivre :

▸ **Si greffe géno-identique :**

Jusqu'à J₉₀ puis diminution progressive et arrêt à J₁₂₀

▸ **Si greffe non apparentée :**

Jusqu'à J₁₂₀ puis diminution progressive et arrêt à J₁₈₀

Si absence de GvH.

2. Cellcept

15 mg/kg x 2/jour (I.V.)

▸ Si greffe géno-identique : J₊₁ - J₂₈

▸ **Si greffe non apparentée** : J₊₁ - J₄₀ avec arrêt progressif à J₁₀₀

e) Immunothérapie adoptive (annexe)

Seules des recommandations peuvent être faites : elle sera basée sur le suivi de la maladie mesurable et la recherche d'un chimérisme mixte et selon les habitudes de chaque centre.

6. Bilans d'évaluation après traitement :

- tous les trois mois durant la première année : examen clinique, bilan sanguin complet.

- tous les 6 mois durant les deux premières années, puis tous les ans durant les trois années suivantes : examen clinique, scanner thoracique, abdominal et pelvien, biologie hépatique, et rénale, LDH, hémogramme, bilan inflammatoire.

-

7 CADRE REGLEMENTAIRE ET ADMINISTRATIF

7.1. notice d'information du patient

Une notice d'information sera remise au patient avant l'inclusion dans le protocole et il sera informé sur le droit d'accès, d'opposition et de rectification aux informations qui le concerne.

7.2 Procédures d'inclusion

au moment du diagnostic de rechute très défavorable le patient est préinclus à l'aide de la fiche1 (Fax 01 42 49 99 72) et a son typage HLA. Les patients sont ensuite inclus avant la première intensification. Pour inclure un malade, il faut remplir la feuille d'inclusion (Fiche 2)(page 7), et l'envoyer par fax avec le consentement informé **au Secrétariat Intergroupe**, Centre Hayem, Hôpital Saint-Louis, 1 avenue Claude Vellefaux, 75475 Paris cedex 10, **Fax 01 42 49 99 72**.

7.3 Recueil de données

Un cahier de recueil de données simplifié a été établi et sera rempli par le secrétariat à l'aide des comptes rendu d'hospitalisation. Les compte rendus devront être envoyés **au Secrétariat Hodgkin Intergroupe**, centre Hayem Hôpital Saint-Louis, 1 avenue Claude Vellefaux, 75475 Paris cedex 10, **Fax 01 42 49 99 72**. Nous demandons, résumé du diagnostic initial , les compte rendu d'hospitalisation pour les greffes et un double des lettres de suivi. En cas de difficultés d'interprétation des données l'investigateur principal se mettra en contact avec l'investigateur du centre.

7.4 Obligations de l'investigateur

L'investigateur s'engage à collecter les données disponibles requises par le protocole et à les envoyer par l'intermédiaire du compte rendu d'hospitalisation. L'investigateur s'engage également à tenir à disposition ces données pour évaluation à l'investigateur principal coordonateur, et à toute personne mandatée par ce dernier et tout représentant ds autorités administratives et/ou réglementaires. Conformément à la législation française concernant les études ne s'inscrivant pas dans le champ d'application de la ligne directrice européenne relative aux essais cliniques, aucune police d'assurance n'est exigée.

7.5 Archivage

L'investigateur coordonateur principal conservera toute la documentation liée à l'étude pendant 10 ans.

7.6 arrêt prématuré de l'étude

L'investigateur coordonateur pourra interrompre l'étude à tout moment et en informera alors les médecins participants. Cette interruption devra avoir lieu après concertation avec le comité scientifique et informations des autorités compétentes (CCTIRS et CNIL).

8. PHARMACOVIGILANCE

Cette étude observationnelle ne s'inscrit pas dans le champ d'application de la ligne directrice européenne relative aux essais cliniques.

Selon l'article R.5144.19 du code de la santé publique, dans le cadre de sa pratique médicale habituelle, tous médecins ayant constaté un effet désirable grave ou innattendu susceptible d'être dû à un médicament ou produit mentionné à l'article R.5144.19, qu'il l'ait ou non prescrit doit en faire la déclaration au centre régional de pharmacovigilance.

Sont considérés comme évènements indésirables graves ceux qui quelque soit le traitement :

- entraînent un décès
- mettent la vie en danger
- nécessitent une hospitalisation ou un prolongement d'une hospitalisation au-delà de 30 jours pour une greffe
- entraînent une incapacité permanente
- résultent en une anomalie congénitale ou un décès in-utero

9. Considerations statistiques

Les malades enregistrés avant tout traitement seront analysés. L'analyse portera sur tous les malades préinclus et inclus.

La durée de la survie sans événement est définie par la période entre la date de première intensification et la date de survenue d'un événement (décès, rechute pour les patients répondeurs, la progression pendant et après le traitement et l'instauration d'un nouveau traitement)

La survie globale est définie par la période entre la date de première intensification et le décès du malade, quelle qu'en soit la cause.

Sous réserve d'un effectif optimal de 30 malades par an, la durée prévisible de l'étude est de 5 ans.

10 . Confidentialité

Les informations recueillies feront l'objet d'un traitement informatique destiné à l'édition de statistiques. Les données de santé se limitent aux finalités scientifiques de l'étude, seul le médecin en charge du patient et les investigateurs auront accès aux données anonymisées. Un numéro d'ordre sera attribué au patient et seul le médecin en charge du patient aura accès à son identité. L'équipe du traitement statistique n'aura accès qu'aux initiales du patients et à l'année de naissance afin d'éviter d'enregistrer 2 fois le même patient. L'étude sera conduite conformément à l'article L.4113-6 et à l'article L.4113-9 du code de la santé publique et la loi informatique et libertés du 06 janvier 1978 modifiée par la loi du 1 juillet 1984 et complétés par un décret d'application le 9 Mai 1995. Les patients seront informés par écrit qu'ils bénéficient d'un droit d'accès et de rectification des informations les concernant ainsi qu'un droit d'opposition au traitement de leur données.

11. Références

1. Akpek g, Abinder RF, Piantadosi A et al. Long-term results of blood and marrow transplantation for Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2001, 19:4314-4321.
2. Alvarez I, Sureda A, Caballero MD et al. Non-myeloablative stem-cell transplantation is an effective therapy for relapsed and refractory Hodgkin lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant* 12:172-183, 2006.
3. Anderlini P, Saliba R, Acholonu S, et al. reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation in relapsed and refractory Hodgkin's disease: low transplant related mortality and impact of intensity of conditioning regimen. *Bone Marrow Transplant* 35:943-951, 2005.
4. André M, Henry-Amar M, Pico JL et al. Comparison of high-dose therapy and ASCT with conventional therapy for Hodgkin's disease induction failure : a case control study. *J Clin Oncol* 17 :222-229, 1999.
5. Armand P, Kim HT, Ho VT et al. Allogeneic transplantation with RIC conditioning for Hodgkin and non-hodgkin lymphoma, importance of histology for outcome. *Biol Blood and Marrow Tranplant* 14:418-25, 2008.
6. Brice P, Bouabdallah R, Moreau P et al_ Prognostic factors for survival after high-dose therapy and ASCT for patients with relapsing Hodgkin's disease: analysis of 280 patients from the french registry. *Bone Marrow Transplant* 1997, 20:21-26.8
7. Brice P, Diviné M, Simon D et al. Feasibility of tandem ASCT in induction failure or very unfavorable relapse from Hodgkin's disease. *Ann Oncol* 10 :1485-1488, 1999.
8. Brice P: Managing relapsed and refractory Hodgkin lymphoma. *Brit J Haematol* 2008, 141:3-13.
9. Carella AM, Cavaliere M, Lerma E et al. Autografting followed by nonmyeloablative immunosuppressive chemotherapy and allogeneic HSC transplantation as treatment of resistant HD and NHL. *J Clin Oncol* 2000, 18:3918-3924.
10. Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B et al. Report of an international workshop to standardize response criterias for NHL. *J Clin Oncol* 1999,17:1244-1253
11. Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME et al. Revised response criteria for malignant lymphoma. *J Clin Oncol* 2007, 25:579-586.
12. Chopra AK, McMillan AK, Linch DC et al: The place of high-dose BEAM therapy and ABMT in poor-risk Hodgkin's disease, a single center eight-year study of 155 patients. *Blood* 1993, 81:1137-45.
13. Crump M, Smith AM, Brandwein J et al: high-dose etoposide and melphalan and ABMT for patients with advanced Hodgkin's disease, importance of disease status at transplant. *J Clin Oncol* 1993, 11:704-11.
14. Fermé C, Mounier N, Diviné M et al. Intensive salvage chemotherapy with high-dose chemotherapy for patients with advanced HD in relapse or failure after initial chemotherapy: results of the GELA H89 trial. *J Clin Oncol* 2002, 20:467-475.
15. Gribben JG, Linch DC, Singer CR et al: Successful treatment of refractory Hodgkin's disease by high dose combination chemotherapy and autologous bone marrow transplantation. *Blood* 1989, 73: 340-4.
16. Josting A, Franklin J, May M, et al. New prognostic score based on treatment outcome of patients with relapsed Hodgkin's lymphoma registered in the database of the German Hodgkin's lymphoma study group. *J Clin Oncol*; 2002;20:221-230.

17. Krochinsky F, Holig K, Pmatzbecker U et al. Efficacy of single-dose pelfigrastim after chemotherapy for the mobilization of APBSC in patients with malignant lymphoma or multiple myeloma. *Transfusion*; 2006, 46:1417-1423.
18. Morschhauser F, Brice P, Ferme C et al. Risk-adapted salvage treatment with single or double autologous stem-cell transplantation for first relapsing/refractory Hodgkin lymphoma: results of the prospective multicenter H96 trial. *J Clin Oncol* 2008,26:5780-7.
19. Moskowitz CH, Nimer SD, Zelenetz AD et al. A 2 step comprehensive high-dose chemoradiotherapy second-line program for relapsed and refractory Hodgkin disease: analysis by intent to treat and development of a prognostic model. *Blood* 2001, 97:616-623.
20. Peggs KA, Anderlini P, Sureda A. Allogeneic transplantation for Hodgkin lymphoma. *Brit J Hematol* 2008, 143:468-480.
21. Robinson SP, Sureda A, Canals C et al. RIC allogeneic stem cell transplantation for HL : identification of prognostic factors predicting outcome. *Haematologica* 2009.
22. Russell N, Mesters R, Schubert J et al. A phase 2 pilot study of pelfigrastim and filgrastim for mobilizing PBPC in patients with NHL receiving chemotherapy. *Haematologica* 2008;93: 405-412.
23. Schmitz N, Pfistner B, Sextro M et al. Aggressive conventional chemotherapy compared with high-dose chemotherapy with ASCT for relapsed chemosensitive Hodgkin's disease: a randomised trial. *Lancet* 2002, 325:2065-2071.
24. Sureda A, Arranz R, Iriondo E et al. ASCT for Hodgkin's disease: results and prognostic factors in 494 patients from the spanish cooperative group. *J clin Oncol* 2001, 19:1395-1404.
25. Sureda A, Robinson S, Canals C et al. RIC conditioning compared with conventional allogeneic stem-cell transplantation in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma, an analysis from the lymphoma working party of the EBMT. *J clin Oncol*, 26:455-462, 2008.
26. Vansteenkiste J, Pirker R, Massuti B et al.: double-blind, placebo-controlled, randomised phase III trial of darbepoetin alpha in lung cancer patients receiving chemotherapy. *J Natl Cancer Inst* 2002, 94:1211-1220.

ANNEXES

1. Lettre d'information sur le protocole

Titre du protocole de recherche :

Etude de cohorte prospective sur la prise en charge du traitement des premières rechutes de lymphomes Hodgkiniens. HR 2009

Introduction

Votre maladie est appelée lymphome hodgkinien, elle débute le plus souvent dans les ganglions. Dans votre cas, le traitement initial de chimiothérapie n'a pas permis d'atteindre une rémission complète ou une rechute est survenue après une rémission complète courte ou la rechute n'a pas été mise en rémission complète après chimiothérapie. L'évolution spontanée en l'absence de traitement est grave, mais cette maladie peut cependant être guérie avec des traitements différents de ceux qui ont été utilisés auparavant.

Le but de ces traitements est d'obtenir une diminution et si possible une disparition de toutes les lésions actuellement visibles après deux à quatre cycles de chimiothérapie, puis d'effectuer une consolidation avec un traitement à fortes doses de chimiothérapie suivie d'une réinjection de vos propres cellules souches hématopoïétiques appelée autogreffe. Après ce premier traitement, si une rémission stable est obtenue un deuxième traitement intensif vous sera proposé suivi d'une deuxième autogreffe ou d'une allogreffe si un donneur compatible a été retrouvé. La recherche d'un donneur de cellules souches hématopoïétiques se fera d'abord dans votre famille à l'aide d'une prise de sang chez vos frères et sœurs en l'absence de donneur familial, une interrogation du fichier de la banque de donneurs volontaires sera faite. L'efficacité de ces traitements chimiothérapiques associés à une ou deux autogreffes a été démontré depuis de nombreuses années. Les greffes allogéniques sont le plus souvent proposées dans le cadre de rechutes après autogreffe avec des résultats encourageants mais une toxicité certaine chez des patients ayant reçu beaucoup de thérapeutiques.

Description du traitement

Les médicaments chimiothérapiques sont administrés par voie intraveineuse toutes les trois ou quatre semaines et généralement nécessitent une courte hospitalisation. Avant que les traitements ne débutent, différents examens usuels seront faits. Tout d'abord, un examen clinique, des analyses standard sur le sang (hémogramme, biochimie, virus) et une analyse radiologique (comprenant un scanner du corps entier, et lorsque cela est possible un pet-scan), un prélèvement de moëlle osseuse dans l'os iliaque avec une aiguille (appelé biopsie médullaire). Les fonctions cardiaques et pulmonaires seront évaluées. Après le deuxième ou troisième cycle, un bilan complet sera effectué (examen sanguin, examen clinique, scanner thoraco-abdominal et en cas d'envahissement initial, une nouvelle biopsie médullaire et un petscan). Si ce premier bilan montre une réponse à la chimiothérapie vous recevrez un troisième cycle identique avec un recueil de cellules souches sanguines

périphériques. En l'absence de réponse après les 3 premiers cycles un autre protocole de chimiothérapie vous sera proposé.

Ces chimiothérapies s'accompagnent le plus souvent d'une anémie avec 20% des patients recevant au moins une transfusion de culots globulaires, pour limiter ce risque nous vous proposons dès l'apparition d'une anémie (Hb < 12g/dl) un traitement hebdomadaire à domicile de darbepoïétine alpha administré en sous cutané. Ce traitement sera à poursuivre tant que votre taux d'hémoglobine est inférieur à 12g/dl et à reprendre si après arrêt ce seuil est à nouveau dépassé.

Ce traitement sera arrêté en cas d'inefficacité et remplacé par des transfusions de globules rouges.

Mobilisation et collection des cellules souches périphériques sanguines

Afin de préparer l'autogreffe de cellules souches périphériques, les cellules souches seront collectées à partir du sang après le troisième cycle de chimiothérapie. Cette mobilisation dans le sang périphérique peut être augmentée par l'administration d'un facteur de croissance hématopoïétique ou G-CSF. Vous recevrez donc des injections sous cutanées de Filgrastim (Neupogen[®]) à cet effet. Quand un nombre suffisant de cellules souches apparaissent dans le sang, ces cellules sont collectées par une procédure dénommée cytophérèse. Cela signifie que le sang est pris au niveau d'un bras comme pour un don de sang, celui-ci est passé dans une sorte de centrifugeuse où sont aspirées les cellules souches, le restant du sang revenant dans la circulation par l'autre bras. Les cellules sont alors congelées à -180°C . Cette procédure prend à peu près 4 heures, elle est effectuée jusqu'à ce que le nombre de cellules souches suffisant soit atteint et il est parfois nécessaire d'effectuer ces cytophérèses plusieurs jours de suite. Si les vaisseaux sanguins des bras sont trop petits ou en mauvaise condition après les traitements, une voie veineuse centrale sera utilisée.

Autogreffe et Allogreffe de cellules souches périphériques

L'évaluation de la réponse après le troisième cycle de chimiothérapie permet de décider si l'intensification avec chimiothérapie et autogreffe peut vous être proposée, car ce traitement n'est efficace que s'il existe une régression suffisante de la tumeur et suffisamment de cellules souches hématopoïétiques pour permettre un traitement intensif en toute sécurité. Un cathéter veineux central est installé pour administrer les médicaments et la nutrition parentérale si nécessaire. L'intensification thérapeutique se fait en 2 temps : un traitement initial chimiothérapique sur 5 jours avec Carmustine, etoposide cytarabine et Melphalan. Cette phase de traitement aboutit à une destruction des cellules de la moëlle osseuse. Deux jours après la fin du traitement chimiothérapique, les cellules souches périphériques collectées auparavant et conservées par congélation sont décongelées et réintroduites dans votre organisme comme une transfusion. Pour ce traitement, vous devrez rester à l'hôpital entre 2 et 3 semaines. Pendant la période où les globules blancs, globules rouges et plaquettes auront été détruits et avant la récupération hématologique de ces cellules, il existe une période appelée aplasie qui expose à des risques infectieux qui devront être traitée par une équipe spécialisée avec des antibiotiques à large spectre. De même, des transfusions de globules rouges de plaquettes pourront être nécessaires pour éviter les complications hémorragiques. Une

deuxième intensification est prévue environ 2 mois après la première et dépendra des résultats des recherches de donneur de moëlle :

- en l'absence de donneur identifié, une deuxième autogreffe sera faite avec du busulfan (ou une irradiation) et 3 jours de chimiothérapie (aracytine et alkeran) ce traitement sera suivi de la réinjection de la deuxième partie des cellules souches prélevées par cytophèreses. Il y aura de nouveau des risques infectieux et des transfusions.
- en présence d'un donneur de moëlle la deuxième greffe sera une allogreffe avec une chimiothérapie comprenant fludarabine et busulfan à doses modérées. L'aplasie médullaire sera moins importante mais vous recevrez un traitement immunosuppresseur pour éviter une réaction du greffon contre l'hôte. Après votre sortie de l'hôpital vous serez suivi de façon très rapprochée car cette réaction immunologique peut survenir tardivement.

A la fin du traitement (trois mois après la deuxième intensification), un nouveau bilan sera effectué : analyse sanguine, examen clinique, examen radiologique avec scanner thoraco-abdominal.

Après avoir terminé le protocole thérapeutique, vous serez vu à l'hôpital tous les trois mois pendant la première année (plus fréquemment en cas de greffe allogénique). Un examen clinique sera effectué à chaque visite associé à un bilan sanguin. Pendant ces visites, d'autres examens pourront vous être demandés en cas de signes d'appel, d'autres examens radiologiques, mais l'évaluation par scanner sera effectuée au minimum au 7^{ème}, 12^{ème} et 24^{ème} mois après transplantation. Par la suite, les visites s'effectueront tous les 6 mois pendant 5 ans, puis tous les ans.

2. FICHES D'INCLUSION

Etude de cohorte prospective des échecs et premières rechutes très défavorables de lymphomes Hodgkiniens. HR 2009

FICHE 1

FEUILLE DE PREINCLUSION à faxer au 01 42 49 99 72

Centre Ville : _____ Fax : _____

Médecin responsable : _____

Date d'inclusion : /_/_/ /_/_/ /_/_/

Malade à inclure

| | |
|----------------|---------------------------------------|
| Nom : _____ | Nom de jeune fille : _____ |
| Prénom : _____ | Date de naissance : /_/_/ /_/_/ /_/_/ |

N° d'inclusion : /_/_/ /_/_/ /_/_/ /_/_/

| |
|--------------------------|
| Centre de greffe : ----- |
| Adresse : _____ |

. CRITÈRES D'INCLUSION :

1. age < 56 ans †
2. LH en progression documentée après une ligne de chimiothérapie comprenant des anthracyclines †

(NB les patients avec un TEP positif après 2 cures d'ABVD ne sont pas concernés)

avec les un des critères suivants :

- rechute très défavorable (intervalle fin du traitement et rechute inférieur à 12 mois) **et** stade III ou IV à la rechute oui †
- stade II/III ou IV en échec primaire oui †
- rechute refractaire au traitement de rattrapage oui †

. CRITÈRES DE NON INCLUSION :

- histologie à prédominance lymphocytaire nodulaire non †
- patient ayant reçu une autogreffe non †
- Stade I A favorable initial non †
- Patients traités par radiothérapie seule en première ligne non †
- Sérologie VIH positive non †
- Pathologie évolutive non †
- Femmes enceintes non †
- Patient « majeur protégé par la loi » non †

. Date de chimiothérapie /_/_/ /_/_/ /_/_/

. Date du typage HLA /_/_/ /_/_/ /_/_/

. Date théorique d'intensification N°1 /_/_/ /_/_/ /_/_/

**Etude de cohorte prospective des échecs et premières rechutes
très défavorables de lymphomes Hodgkiniens. HR 2009**

**FICHE 2
FICHE D'INCLUSION ET GREFFE à faxer au 01 42 49 99 72
Au moment de la 1° intensification**

Centre Ville : _____ **Fax :** _____.____.____
____.____

Médecin responsable : _____

Date d'inclusion : /__/__/__/__/__/____ **Date :** /__/__/__/__/__/____

| | |
|-----------------------|---|
| Nom : _____ | Nom de jeune fille : _____ |
| Prénom : _____ | Date de naissance : /__/__/__/__/__/____ |

N° d'inclusion : / / / / / / / /

| |
|---------------------------------|
| Centre de greffe : ----- |
| Adresse : _____ |

Typage HLA fait † non fait †
raisons : _____

Résultats : donneur intrafamilial †
Donneur de fichier †
Pas de donneur †


Nombre de cures de chimiothérapie de rattrapage : /__/
Date du TEPSCAN /__/__/__/__/__/____

ETAT avant l'intensification :

RP † RC/RCu † autres †

Date intensification N° 1 : /__/__/__/__/__/____

Date théorique N°2 : /__/__/__/__/__/____ **autologue** † **allogénique**
†

| | | | |
|----------|-----------|---------------|---|
| Initials | 5 0 0 3 1 | ADVERSE EVENT |  |
|----------|-----------|---------------|---|

ADVERSE EVENT N° _____

For an Adverse Event (AE) - Please complete page 1

For an Serious Adverse Event (SAE) - Please complete and fax page 1 and 2

Adverse Event _____

Description (diagnosis) :
ANNEXE ALLOGREFFE

Start Date Event _____

1. Etude du chimerisme (chapitre écrit avec les conseils du Prof. JF ELIAOU de Montpellier). La technique choisie devra permettre d'atteindre une sensibilité de détection minimum de 1-5 %

Intensity (non hematological Toxicity) 1.1. Origine des cellules. Grade Grade Grade Grade

L'analyse du chimerisme est réalisée sur des cellules leucocytaires totales obtenues dans du sang périphérique. Grade 4

Hemoglobin: _____ 1g/dl Marqueurs génétiques utilisés Giga/l Platelets _____

Relationship with study L'analyse du chimerisme repose sur l'étude par PCR de marqueurs polymorphes de type STR et éventuellement VNTR et la discrimination des allèles du donneur et du receveur. No Yes

Actions taken with study drugs Evaluation des produits PCR. No Yes

Permanent Temporary Discontinuation Adaptation

Corrective Treatment / Therapy Avant la greffe, le ou les marqueurs gé (s) que (s) il existe une différence entre le donneur et le receveur. **Antibiothera** No Yes

Please use DCT Pour ceci, on détermine le profil allélique du donneur et du receveur pré-greffe pour un panel de marqueurs 1. polymorphes. Les allèles identifiés pour chaque marqueur sont comparés entre donneur et receveur. Les marqueurs informatifs, c'est à dire pour lesquels au moins 1 allèle du receveur est différent de ceux du donneur seront ensuite utilisés pour rechercher la présence de cellules du receveur après la greffe.

Seriousness Criteria : NO YES *If Yes, Complete the SAE Form (next page)*

Le choix définitif du marqueur informatif pour un couple donneur/receveur donné pourra être réalisé en fonction de plusieurs critères : une différence de polymorphisme entre le donneur et le receveur, le type de marqueur (préférence généralement donnée aux STRs), la configuration du polymorphisme entre donneur et receveur, l'adéquation entre les quantités réelles d'ADN du donneur et du receveur des mélanges artificiels constitués pour construire la gamme de calibration et les quantifications obtenues avec le (s) marqueur(s).

Le chimerisme est ensuite analysé dans les prélèvements recueillis après la greffe. Le marqueur polymorphe informatif pour un couple donneur/receveur donné est amplifié. Pour améliorer la fiabilité de l'évaluation métrique, chaque prélèvement post-greffe est analysé avec le prélèvement précédent du même patient.

AE No, cause of death : _____

FOR GELARC USE ONLY

| | | | | | | | |
|----------------------|-----------------|---------|---------|---------------------|--------|---------|---------|
| | Normal | Anormal | Unknown | | Normal | Anormal | Unknown |
| Description : | Cardio-vascular | | | Gastro-intestinal | | | |
| | Pulmonary | | | Renal/genitourinaty | | | |
| | Neurology | | | Infection | | | |
| | Other : | | | | | | |

AE Codage : Code 1 : _____ Code 2 : _____ Code 3 : _____

valeur obtenue est reportée sur une gamme de calibration obtenue à partir de dilutions de l'ADN du receveur dans l'ADN du donneur. Ceci permet de déterminer la proportion relative de cellules du receveur dans l'échantillon post-greffe.

Si l'allèle spécifique du receveur n'est pas détecté, la sensibilité de la détection est évaluée par l'analyse de faibles dilutions de l'ADN du receveur dans celui du donneur (ex: 5%, 2.5%, 1%). Le résultat « absence de cellules du receveur » est rendu en tenant compte de la sensibilité obtenue. En effet, cette sensibilité est variable selon la configuration allélique étudiée.

1.4. Aspects pratiques :

▸ Volume de sang nécessaire et conditions de prélèvements :
≥ 5 ml de sang périphérique sont nécessaires pour chaque point d'analyse.
Le sang doit être prélevé sur EDTA ou ACD (jamais sur Héparine).

▸ Détermination des marqueurs génétiques informatifs
Il est absolument indispensable d'envoyer au laboratoire environ 1 mois avant la date prévue de la greffe ≥ 5 ml de sang périphérique du donneur et du futur receveur afin de déterminer le ou les marqueur(s) génétique(s) informatif(s).

NB: le volume de sang est à adapter en fonction de la leucocytose et devra être augmenté en cas de cytopénie.

▸ Conditions d'acheminement au laboratoire
Les prélèvements devront être acheminés en moins de 48h et à température ambiante.

▸ Rendu des analyses
Les analyses semi-quantitatives seront effectuées dans un délai de 8 jours ouvrables. Lors de l'analyse une étude simultanée du prélèvement du jour et du prélèvement précédent sera systématiquement effectuée. Les résultats seront exprimés de la façon suivante :

- ✓ Soit aucune cellule du receveur n'a pu être détectée dans le prélèvement, compte tenu de la sensibilité de la méthode (1 à 5%) = chimère totale (sensibilité de la détection).
- ✓ Soit un pourcentage indiqué de cellules du receveur est détectable dans le prélèvement = chimère partielle (valeur quantifiée en pourcentage de cellules du receveur)
- ✓ Soit aucune cellule du donneur n'a pu être détectée dans le prélèvement, compte tenu des variations de la méthode (1 à 5 %) = absence de chimère (sensibilité de la détection).

Il est important de souligner que, plus qu'un pourcentage absolu, c'est la cinétique de la chimère sur deux prélèvements ou plus, qui est informative.

1.5. Période d'étude du chimérisme

Les prélèvements seront réalisés à J₊₃₀ après la greffe, J₊₆₀, J₊₉₀ puis tous les 3 mois pendant 2 ans.

En cas de chimérisme partiel (cf. définition) sur un premier prélèvement, un deuxième prélèvement sera réalisé deux semaines plus tard pour contrôle.

1.6. Seuil de positivité - Définitions

La sensibilité dépend de la configuration allélique du marqueur génétique utilisé. Celle-ci peut varier de 1 à 5%. Les marqueurs donnant la meilleure sensibilité seront toujours préférés.

Enfin, tout résultat de type « chimère totale » devra être systématiquement contrôlé, soit en utilisant un autre marqueur, de type VNTR par exemple, soit en utilisant la technique de PCR en temps réel.

▸ Chimère partielle croissante :

Définition :

Le seuil de positivité devra être supérieur au seuil de sensibilité de la méthode utilisée (1-5 % en fonction des marqueurs) avec doublement sur 2 prélèvements consécutifs réalisés à 2 semaines d'intervalle (par ex : 3% puis 6% 14 jours plus tard). Il devra être déterminé pour tous les couples donneur receveur à l'aide d'une gamme de calibration.

Elle correspond à la première détection d'une chimère partielle avant toute modification de l'immunothérapie.

Un cas particulier est un chimérisme stable sur 2 prélèvements consécutifs. On considérera qu'il y a chimère partielle décisionnelle si le pourcentage de cellules receveur est supérieur à 5 % sur les 2 prélèvements.

1.7. Divers

Le chimérisme sera réalisé sur les cellules leucocytaires totales non séparées obtenue à partir du sang périphérique.

2. Immunothérapie

Elle sera décidée selon la persistance :

- d'une maladie mesurable à partir de J₉₀
- et/ou
- d'un chimérisme mixte (cf. définition) à partir de J₆₀

3.1 En situation géno-identique

La stratégie sera la suivante :

3.1.1 Arrêt de la Ciclosporine en deux semaines.

3.1.2 Contrôle de la maladie et/ou du chimérisme 1 mois après l'arrêt de la Ciclosporine.

3.1.3. Réinjection de lymphocytes du donneur à doses

progressivement croissantes si :

- Maladie persistante et/ou
- Présence d'un chimérisme mixte (cf. définition) et
- Absence de GvH aiguë antérieure de stade ≥ 2 .
- Absence de GvH chronique extensive.

En cas de GvH aiguë antérieure de grade 1, seulement si cette dernière est totalement maîtrisée avec arrêt du traitement immunosuppresseur depuis 4 semaines.

En cas de GvH chronique limitée seulement si cette dernière est totalement maîtrisée avec arrêt du traitement immunosuppresseur depuis 2 mois.

Paliers de doses

| RLD | Facteurs décisionnels | |
|-------|-----------------------|------------------|
| | Maladie persistante | Chimérisme mixte |
| RLD 1 | 1×10^7 ① | 1×10^6 |
| RLD 2 | 3×10^7 | 3×10^6 |
| RLD 3 | 1×10^8 | 1×10^7 |
| RLD 4 | 3×10^8 | 3×10^7 |

Réinjections de lymphocytes donneur (RLD) - Doses croissantes
① CD3/kg

Il faudra respecter un intervalle de deux mois entre chaque RLD (sauf en cas de maladie évolutive).

La maladie persistante et/ou le chimérisme seront contrôlés deux mois après chaque RLD.

Les critères d'efficacité décisionnels qui permettront de passer d'une dose à la dose nettement supérieure répondront aux définitions suivantes :

a) Chimérisme :

▸ Réponse : ADN receveur non détectable avec les « techniques protocolaires »

▸ Non Réponse : ADN receveur détectable (« positivité » supérieure au seuil de sensibilité de la méthode utilisée avec les techniques « protocolaires »).

b) Maladie persistante :

▸ Réponse : Absence de maladie détectable.

▸ Non Réponse : Présence d'une maladie détectable

3.2. Greffe en situation non apparentée
La stratégie sera la suivante :

3.2.1 Arrêt de la Ciclosporine en 4 semaines.

3.2.2 Contrôle de la maladie persistante et/ou du chimérisme 1 mois après l'arrêt de la Ciclosporine.

3.2.3. Réinjection de lymphocytes du donneur à doses

progressivement croissantes si:

- Maladie persistante et/ou
- Persistance d'un chimérisme mixte (cf. définition) et
- En l'absence de tout antécédent de GvH aiguë et/ou GvH chronique même totalement maîtrisée.

Paliers de doses

| RLD | Facteurs décisionnels | |
|-------|-----------------------|---------------------|
| | Maladie persistante | Chimérisme mixte |
| RLD 1 | 1 x 10 ⁶ ① | 1 x 10 ⁵ |
| RLD 2 | 3 x 10 ⁶ | 3 x 10 ⁵ |
| RLD 3 | 1 x 10 ⁷ | 1 x 10 ⁶ |
| RLD 4 | 3 x 10 ⁷ | 3 x 10 ⁶ |

Réinjections de lymphocytes donneur (RLD) – Doses croissantes
① CD3/kg

On respectera un délai minimum de deux mois entre chaque RLD.

Contrôle de la maladie persistante et/ou du chimérisme, deux mois après chaque RLD.

Les critères d'efficacité décisionnels qui permettront de passer d'une dose à la dose immédiatement supérieure répondront aux définitions suivantes :

a) Chimérisme :

▸ Réponse : ADN receveur non détectable avec les « techniques protocolaires ».

▸ Non Réponse : ADN receveur détectable (« positivité » supérieure au seuil de sensibilité de la méthode utilisée avec les techniques « protocolaires »).

b) Maladie persistante :

- Réponse : Absence de maladie détectable.
- Non Réponse : Présence d'une maladie détectable.

Délais minimaux entre le 1^{ère} RLD et la greffe suivant l'étude de donneur :

Quelle que soit la date de la 1^{ère} détection du chimérisme partiel ou de la maladie persistante, la RLD ne pourra débuter avant :

| | | | | | |
|------------------------|------------------------|---------|------|---------------|-----------|
| Grefe géno-identique : | J ₉₀ | | | | |
| Grefe non apparentée : | J ₁₂₀ | (greffe | avec | compatibilité | allélique |
| 10/10 ^{ème}) | | | | | |
| | J ₁₅₀ | (greffe | avec | compatibilité | allélique |
| | 9/10 ^{ème}). | | | | |