

**Dynamique des populations immunocompétentes chez des patients traités
par photophérèse extracorporelle lors de la maladie chronique du greffon
contre l'hôte**

-

Etude multicentrique sous l'égide de la SFGM-TC

Titre abrégé : Immuno-PEC

N° de code attribué par le promoteur : 2017_29

N° ID : 2017-A01889-44

PROMOTEUR

CHRU de Lille

Département de la recherche en santé

2 avenue Oscar Lambret

59037 LILLE Cedex

Tél. : 03 20 44 59 69

INVESTIGATEUR

Pr. Ibrahim Yakoub-Agha

COORDONNATEUR

Service des Maladies du sang, Unité d'Allogreffes, Hôpital
Huriez, CHRU Lille

rue M. Polonovski 59037 Lille Cedex

03 20 44 41 76

E-mail : ibrahim.yakoubagha@chru-lille.fr

Protocole Confidentiel Immuno-PEC version 1.1 du 16.10.2017

| Co-investigateurs |
|---|
| <p>Dr. Leonardo Magro</p> <p>Service des Maladies du sang, Unité d'Allogreffes, Hôpital Huriez</p> <p>CHRU Lille, rue M.Polonovski</p> <p>59037 Lille Cedex</p> <p>E-mail : leonardo.magro@chru-lille.fr</p> |
| <p>Dr. Arnaud Lionet</p> <p>Service de néphrologie</p> <p>Hôpital Huriez</p> <p>CHRU Lille rue M.Polonovski</p> <p>59037 Lille Cedex</p> <p>E-mail : arnaud.lionet@chru-lille.fr</p> |
| Immunologistes |
| <p>Pr. Myriam Labalette</p> <p>Institut d'Immunologie</p> <p>Pôle de Biologie-Pathologie-Génétique</p> <p>Rue Paul Nayrac 59037 Lille Cedex</p> <p>Tél : 03 20 44 40 87</p> <p>E-mail : myriam.labalette@chru-lille.fr</p> |
| <p>Dr. Pauline Varlet</p> <p>Institut d'Immunologie</p> <p>Pôle de Biologie-Pathologie-Génétique</p> <p>Rue Paul Nayrac 59037 Lille Cedex</p> <p>Tél : 03 20 44 40 87</p> <p>E-mail : pauline.varlet@chru-lille.fr</p> |



| | Centre investigateur | Investigateur principal |
|----|--|---|
| 01 | <p>CHU de Lille</p> <p>Service des Maladies du sang Unité d'Allogreffes Hôpital Huriez rue M.Polonovski 59037 Lille Cedex</p> | <p>Pr. Ibrahim Yakoub-Agha</p> <p>ibrahim.yakoubagha@chru-lille.fr</p> |
| 02 | <p>CHU d'Amiens</p> <p>Service d'Hématologie clinique et Thérapie cellulaire CHU d'Amiens Hôpital Sud Avenue Laënnec Salouël 80054 Amiens Cedex 1</p> | <p>Pr. Jean Pierre Marolleau</p> <p>marolleau.jean-pierre@chu-amiens.fr</p> |
| 03 | <p>CHU de Grenoble</p> <p>Pôle Cancer et Maladies du sang Hôpital Michallon CHU Grenoble 38043 Grenoble Cedex 09</p> | <p>Pr. Frédéric GARBAN</p> <p>FGarban@chu-grenoble.fr</p> |
| 04 | <p>CHU de Montpellier</p> <p>Unité d'Aphérèse Thérapeutique et Hémovigilance (ATH) Hématologie et Oncologie médicale Hôpital Saint Eloi 80 Avenue Augustin Fliche 34295 Montpellier</p> | <p>Dr. Salaheddine BOUHYA</p> <p>s-bouhya@chu-montpellier.fr</p> |
| 05 | <p>CHU de Lyon</p> <p>Centre Hospitalier Lyon Sud 165 Chemin du Grand Revoyet Hématologie Pav. Marcel Bérard 1G 1er étage Unité de Recherche Clinique 69495 Pierre-Bénite</p> | <p>Pr. Mauricette Michallet</p> <p>mauricette.michallet@chu-lyon.fr</p> |
| 06 | <p>CHU Paris Hôpital Saint-Louis</p> <p>Service d'Hématologie Greffe de Moelle Hôpital Saint Louis 1 avenue claude-Vellefaux 75010 Paris</p> | <p>Pr. Gérard Socié</p> <p>gerard.socie@paris7.jussieu.fr</p> |



| | | |
|------------------|---|--|
| <p>07</p> | <p>CHU Paris Hôpital Pitié-Salpêtrière Service Hématologie Greffe de Moelle Hôpital Pitié-Salpêtrière 47-83 Bd de l'hôpital 75013 Paris</p> | <p>Pr. Stéphanie Nguyen Quoc stephanie.nguyenkhoc@psl.aphp.fr</p> |
| <p>08</p> | <p>CHU Saint Etienne Service d'Hématologie Clinique Institut de Cancérologie Lucien Neuwirth 108 bis avenue Albert Raimond 42271 Saint Priest en Jarez</p> | <p>Dr. Jerome Cornillon jerome.cornillon@loire.fr</p> |

PAGE DE SIGNATURE DU PROTOCOLE

Code promoteur : 2017_29

Titre: Dynamique des populations immunocompétentes chez des patients traités par photophérese extracorporelle lors de la maladie chronique du greffon contre l'hôte

N° de version et date : n°1.0 du 07/07/2017

L'investigateur coordonnateur et le promoteur s'engagent à réaliser cette étude selon le protocole, les règles et les recommandations des bonnes pratiques cliniques internationales et selon les dispositions législatives et réglementaires applicables à la recherche.

| | | | |
|---|--------------------------------|-----------------------------------|------------------|
| PROMOTEUR REPRESENTANT LEGAL | CHRU de Lille | DATE -- / -- / ---- | SIGNATURE |
| INVESTIGATEUR COORDONNATEUR | Pr. Ibrahim Yakoub-Agha | DATE -- / -- / ---- | SIGNATURE |

SIGNATURE DE L'INVESTIGATEUR PRINCIPAL

J'ai lu l'ensemble des pages de ce protocole dont le CHRU de Lille est le promoteur, et je confirme qu'il contient toutes les informations nécessaires à la conduite de l'essai.

Je m'engage à réaliser l'essai en respectant le protocole et les termes et conditions qui y sont définis ainsi que ses éventuels amendements qui me seront transmis par le promoteur. Je m'engage à conduire ce protocole conformément aux Bonnes Pratiques Cliniques, à la Loi de Santé Publique du 9 août 2004 et du décret d'application du 16 novembre 2016 et notamment en délivrant l'information et en recueillant le consentement écrit des patients avant toute procédure de sélection du protocole.

Je m'engage à ce que les investigateurs et les autres membres qualifiés de mon équipe aient accès aux copies de ce protocole et des documents relatifs à la conduite de l'essai pour leur permettre de travailler dans le respect des dispositions figurant dans ces documents.

Je suis informé que mes données nominatives font l'objet d'un traitement automatisé ayant pour finalité la mise en place et le déroulement de la recherche. Ces informations peuvent éventuellement faire l'objet de transfert hors de l'Union Européenne. Conformément à la loi du 6 janvier 1978 modifiée, je bénéficie auprès du promoteur d'un droit d'accès et de rectification de mes informations personnelles.

| | | | |
|--|---|-----------------------------------|------------------|
| INVESTIGATEUR PRINCIPAL ETABLISSEMENT | Dr/Pr Prénom NOM Ville, Hôpital, Service | DATE -- / -- / ---- | SIGNATURE |
|--|---|-----------------------------------|------------------|

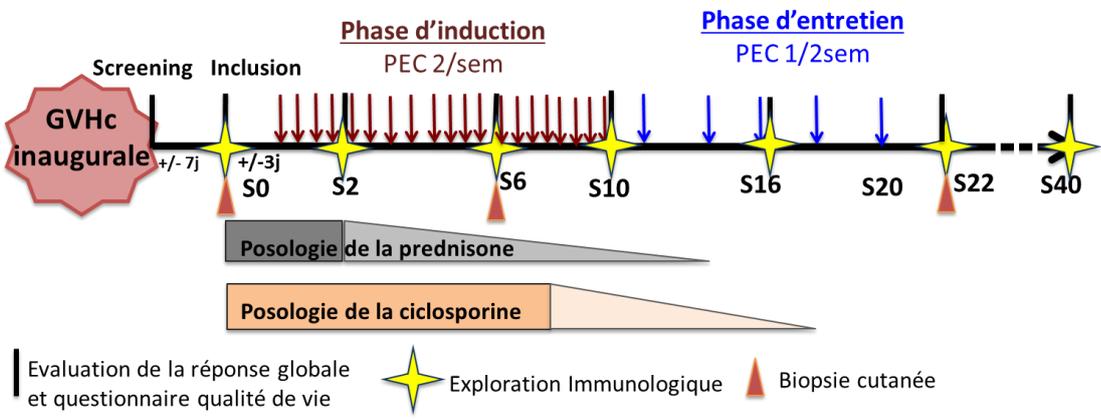
Sommaire

| | |
|--|-----------|
| I. Synopsis | 7 |
| II Rationnel | 12 |
| II.1) Prise en charge de la maladie chronique du greffon contre l'hôte | 12 |
| II.2) Rationnel de l'étude..... | 12 |
| III Objectif de la recherche | 13 |
| III.1) Objectif principal | 13 |
| III.2) Objectifs secondaires | 13 |
| IV Conception de la recherche | 13 |
| IV.1) Plan expérimental..... | 13 |
| IV.2) Définition de la population étudiée | 14 |
| IV.3) Critères d'évaluation..... | 15 |
| IV.4) Calcul du nombre de sujets..... | 17 |
| V Logistique de l'étude | 17 |
| V.1) Équipes participantes | 17 |
| V.2) Déroulement pratique de la recherche | 19 |
| V.3) Durée..... | 23 |
| V.4) Critères d'arrêt de participation à l'étude..... | 23 |
| V.5) Interdiction de participation simultanée – période d'exclusion..... | 23 |
| VI) Traitement | 23 |
| VI.1) Traitement immunosuppresseur : Prednisone et Ciclosporine | 23 |
| VI.2) Traitement par photophérèse extracorporelle | 24 |
| VI.3) Schéma et durée du traitement | 24 |
| VII) Biologie et collection biologique | 24 |
| VII.1) Prélèvements sanguins dans le cadre du soin | 24 |
| VII.2) Prélèvements dans le cadre de la recherche | 24 |
| VIII) Etude ancillaire pour les patients inclus à Lille | 28 |
| VIII.1) Objectifs de l'étude | 28 |
| VIII.2) Prélèvements à des fins de recherche..... | 28 |
| IX) Evénements indésirables | 29 |
| IX.1) Définitions | 29 |
| IX.2) Procédures mises en place en vue de l'enregistrement et de la notification des événements indésirables | 29 |
| X) Droit d'accès aux données et documents sources | 29 |
| XI) Contrôle et assurance de la qualité | 29 |
| XII) Considérations éthiques et légales | 30 |
| XIII) Traitement des données et conservation des documents et des données relatives à la recherche | 31 |
| XIV) Assurance | 31 |
| XV) Publication Valorisation | 31 |
| XVI) Bibliographie | 33 |
| XVII) Annexes | 35 |

I. Synopsis

| | |
|----------------------|---|
| Promoteur | CHRU Lille |
| Titre | Dynamique des populations immunocompétentes chez des patients traités par photophérèse extracorporelle (PEC) lors de la maladie chronique du greffon contre l’hôte (Immuno-PEC) Etude multicentrique sous l’égide de la SFGM-TC |
| Coordinateur | Pr Ibrahim YAKOUB-AGHA |
| Sites | <u>8 centres de la SFGM-TC :</u> Amiens Grenoble Lille Lyon Montpellier Paris : La Pitié-Salpêtrière et Saint-Louis Saint Etienne |
| Type d’étude | Etude exploratoire immunologique prospective multicentrique |
| Indication | Traitement de la GVHc inaugurale par PEC en 2 temps |
| Objectifs | <u>Objectif principal :</u> Etude de la variation des populations immunocompétentes circulantes chez des patients répondeurs et non répondeurs traités par PEC entre la prise initiale du traitement et la 6 ^e semaine de traitement dans la GVHc inaugurale. <u>Objectifs secondaires :</u> 1) Comparaison de la variation des sous populations immunocompétentes chez des patients répondeurs et non répondeurs entre la prise initiale du traitement et la 22 ^e semaine de traitement dans la GVHc inaugurale. 2) Estimer l’efficacité de la PEC dans la GVHc inaugurale en association avec le traitement immunosuppresseur (prednisone + ciclosporine) 3) Comparaison de la variation de biomarqueurs sériques et tissulaires chez des patients répondeurs et non répondeurs entre la prise initiale du traitement et la 6 ^{ème} semaine 4) Évaluer l’évolution de la qualité de vie des patients à la 10 ^e semaine et à la 22 ^e semaine de traitement. |
| Critères de jugement | <u>Critère principal :</u> La variation des populations cellulaires (caractérisées par les marqueurs membranaires détaillés dans l’annexe 1) entre la semaine S0 et S6 sera évaluée par cytométrie en flux. On distinguera pour cette analyse les patients répondeurs vs non répondeurs à la 10 ^e semaine de traitement (lors du switch de la phase d’induction à la phase d’entretien). La réponse clinique |

| | |
|----------------------------------|--|
| | <p>sera évaluée conformément aux critères proposés par le consensus de NIH 2014(2).</p> <p><u>Critères secondaires</u></p> <p>1) De même que pour le critère principal mais cette fois-ci la variation des populations sera évaluée entre la semaine S0 et S22. La réponse clinique prise en compte sera celle déterminée à la 22ème semaine.</p> <p>2) - Taux de réponse à 10 semaines et à 22 semaines (réponse complète et partielle) selon les critères de NIH associant le traitement immunosuppresseur (ciclosporine + prednisone) et la photophérese extracorporelle (PEC) chez des patients atteints d'une GVHc inaugurale - Incidence cumulée de la récidence de la GVHc - Survie globale (SG) à 1 an - Incidence de la NRM (Mortalité liée à l'allogreffe sans récidence de la maladie hématologique sous-jacente)</p> <p>3) La variation des biomarqueurs sériques et tissulaires à 6 semaines de la réponse au traitement associant la PEC au traitement immunosuppresseur (ciclosporine + prednisone) sera évaluée par approche cytokinique (cytométrie en flux, ELISA, techniques multiplex) et approche cellulaire (immunomarquage des infiltrats cellulaires sur biopsies cutanées, par microscopie à fluorescence). Les réponses cliniques prises en compte seront celles déterminées à la 10^{ème} et 22^{ème} semaine.</p> <p>4) Les variations des scores de qualité de vie (QLQ-C30) entre la prise initiale du traitement et la 10e et 22e semaine de traitement calculés selon l'annexe 3.</p> |
| <p>Exploration immunologique</p> | <p>Exploration des sous-populations immunocompétentes circulantes et marquage des cellules selon l'annexe 1 :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Prélèvement à S0 avant tout traitement immunosuppresseur lors de l'inclusion des patients - Phase d'induction (2 séances de PEC par semaine) : prélèvement aux semaines 2, 6 et 10 - Phase d'entretien (1 séance de PEC toutes les 2 semaines) : prélèvement aux semaines 16 et 22 - Prélèvement à distance du traitement : Semaine 40 <p>Chacun des prélèvements pour exploration immunologique est à réaliser lors des consultations d'évaluation de la GVHc (réponse clinique évaluée par le clinicien responsable du suivi des patients selon les critères du NIH 2014 et questionnaire d'évaluation de la qualité de vie, annexe 2-4)</p> |
| <p>Critères d'inclusion</p> | <ul style="list-style-type: none"> - Patients âgés de ≥ 18 ans ayant eu une première allo-CSH pour une pathologie hématologique - Poids corporel ≥ 40 kg. - Diagnostic confirmé de GVHc inaugurale nécessitant un traitement systémique. <p>Le diagnostic de GVHc doit être fondé sur le consensus du groupe de travail du NIH (www.asbmt.org/gvhd/index.htm) et selon l'harmonisation des pratiques sur la prise en charge de la réaction chronique du greffon contre l'hôte édité sur le site http://dahpa2011.sfgm-tc.com (Cf. Annexe 2 - Pratique d'harmonisation dans les allogreffes de cellules souches hématopoïétiques).</p> <p>La classification de la GVHc reposera sur les manifestations cliniques, notamment :</p> <ul style="list-style-type: none"> a/ les symptômes oculaires, oraux et muqueux b/ le bilan de performance. c/ l'évaluation des fonctions pulmonaires d/ l'évaluation cutanée e/ l'évaluation des manifestations musculo-squelettiques f/ l'évaluation de l'atteinte hépatique <ul style="list-style-type: none"> - N'importe quelle source de cellules souches hématopoïétiques est autorisée. - Tous les traitements de conditionnement sont autorisés. - Patient validé par l'investigateur local comme étant éligible à un traitement par PEC selon les |

| | |
|---------------------------------|--|
| | <p>critères des centres investigateurs</p> <ul style="list-style-type: none"> - Patient traité selon le schéma de l'étude avec une PEC en 2 temps - Patient ayant signé un consentement éclairé. - La prophylaxie de la GVH maintenue lors de l'apparition de la GVHc est acceptée. - Affiliation au régime de sécurité sociale. - Contraception efficace pour les hommes et femmes en âge de procréer. |
| <p>Critère de non inclusion</p> | <ul style="list-style-type: none"> - Patients ≤ 18 ans - GVHc $\geq 2^{\text{e}}$ ligne de traitement - GVHc pulmonaire exclusive - GVHc avant J100 - GVHc limitée ne nécessitant pas de traitement systémique - GVHc survenant après DLI - Overlaps GVHa-GVHc - GVHa tardive - Patient en rechute ou maladie évolutive - Infection non contrôlée - Seconde allogreffe - Leucopénie $< 0.5G/l$ au screening - Contre-indication absolue à la ciclosporine Néoral[®] - Traitement par corticothérapie ≥ 0.1 mg/kg/jour au moment de l'inclusion - Désir de grossesse jusqu'à 6 semaines après la dernière séance de photophérèse. - Femme enceinte ou allaitante. |
| <p>Taille de l'échantillon</p> | <p>40 patients</p> |
| <p>Schéma de l'étude</p> |  <p>Le schéma de l'étude illustre le déroulement temporel de la prise en charge. Il commence par un Screening et une GVHc inaugurale à ± 7 jours. Suit l'Inclusion à ± 3 jours (S0). La Phase d'induction dure 6 semaines (S0 à S6) avec une posologie de prednisone et de ciclosporine à 2/sem. La Phase d'entretien dure 14 semaines (S6 à S20) avec une posologie de prednisone et de ciclosporine à 1/2sem. Des évaluations globales et des questionnaires de qualité de vie sont effectués à S0, S6, S10, S16, S20 et S22. Des explorations immunologiques sont réalisées à S0, S6, S10, S16, S20 et S22. Des biopsies cutanées sont effectuées à S0, S6, S10, S16, S20 et S22. Le schéma se termine à S40.</p> |

| | |
|--|---|
| <p>Définition des réponses cliniques au traitement</p> | <p><u>% attendus de réponse:</u> (1)</p> <ul style="list-style-type: none"> - 40% de réponse complète (RC) - 25% de réponse partielle (RP) - 35% d'échecs de traitement (NR,PM,RMX) <p>La réponse clinique est définie conformément aux critères proposés par le consensus de NIH 2014(2).</p> <p>- La réponse complète (RC) est définie comme la résolution de toutes les manifestations de GVHc cutanée (en termes de sclérose, éruption érythémateuse ou ulcères) et la résolution de toutes les manifestations liées à la GVHc dans les organes spécifiques atteints, sauf certaines modifications irréversibles.</p> <p>- La réponse partielle (RP) est une amélioration du score de base qui reflète un bénéfice clinique supérieur à la mesure d'erreur de l'outil d'évaluation : ex amélioration d'un point ou plus pour une échelle de 4 à 7 points, 2 points pour une échelle de 10 à 12.... Elle est établie, en fonction de la réponse évaluée dans les principaux organes atteints :</p> <ul style="list-style-type: none"> -<u>Pour l'atteinte cutanée généralisée :</u> * toute amélioration du score de réponse cutanée établi par le NIH dans l'échelle 0 à 3 -<u>Pour l'appareil respiratoire :</u> * amélioration de 10% ou plus pour un VEMS de base de moins de 70% -<u>Pour l'atteinte gastro intestinale :</u> * amélioration de 50% ou plus des transaminases, PAL ou Bilirubine totale <p>- La non réponse (NR) est définie comme l'absence de modification des manifestations de la GVHc ou toute situation ne répondant pas aux critères mentionnés plus haut pour la RP les patients qui décèdent précocement en raison de la GVHc avant le moment choisi pour l'évaluation de la réponse, ainsi que ceux nécessitant une augmentation de la dose de corticoïdes seront considérés comme présentant une NR.</p> <p>- La progression de la maladie (PM) est définie comme toute aggravation d'un point ou plus pour l'échelle de 0 à 3 pour l'atteinte oculaire, cutanée, gastro-intestinale et œsophagique, sauf de 0 à 1. Pour une GVH articulaire toute aggravation d'un point ou plus est considérée comme une progression. Pour une GVH buccale toute aggravation de 2 points ou plus est considérée comme une progression Pour une GVH hépatique une augmentation de 2 fois au plus de la limite maximale pour les transaminases, PAL ou bilirubine totale. Pour une GVH pulmonaire une diminution de 10 % ou plus du VEMS est considérée comme une progression si le VEMS final est <65%. Si le bilan fonctionnel n'est pas disponible l'aggravation du score clinique d'un point ou plus est considéré comme une progression (sauf de 0 à 1 considéré comme trivial).</p> <p>- Une réponse mixte (RMX) est définie par une RC ou une RP au moins au niveau d'un organe accompagnée par la progression dans un autre organe. Cette catégorie doit être considérée comme une progression pour l'analyse. Elle peut identifier une réponse spécifique d'organe.</p> <p>Les réponses NR, PM et RMX seront considérées comme des échecs de traitement.</p> |
|--|---|



| | |
|--|--|
| <p>Procédure d'investigation spécifique à l'étude et différences par rapport à la prise en charge habituelle</p> | <p>La participation au protocole Immuno-PEC sera proposée aux patients atteints d'une GVHc lors des consultations réalisées dans le cadre du soin. Les patients disposeront d'un délai de réflexion suffisant avant toute procédure spécifique à l'étude.</p> <p>Seuls des prélèvements sanguins supplémentaires (6 Tubes de sang à S0, S2, S6, S10, S16, S22 et S40), des biopsies cutanées optionnelles (aux visites S0, S6 et S22) et la réponse aux questionnaires de qualité de vie (aux visites S0, S2, S6, S10, S16, S22 et S40) sont prévus en complément de la prise en charge habituelle.</p> |
| <p>Evaluation des bénéfices</p> | <p>Il n'y a pas de bénéfice direct pour les sujets participant à cette étude.</p> <p>L'étude Immuno-PEC permettra d'accroître les connaissances sur la physiopathologie de cette maladie et sur la mécanistique immunologique du traitement par PEC en vue d'améliorer à terme la prise en charge des personnes atteintes d'une GVH chronique.</p> <p>Cette étude devrait apporter à la communauté scientifique des informations essentielles sur les caractéristiques biologiques de ce traitement permettant l'identification de nouveaux biomarqueurs prédictifs de l'efficacité de la PEC.</p> |
| <p>Evaluation des risques liés à l'étude</p> | <p>Les effets secondaires possibles des prises de sang supplémentaires et des biopsies cutanées sont : hématome, infection au point de ponction, malaise vagal, infection au point de biopsie.</p> <p>La réponse aux questionnaires peut être source de fatigue pour le patient.</p> <p>Aucun autre risque lié à l'étude n'est à prévoir (travail sur des échantillons prélevés dans le cadre de la prise en charge habituelle des patients).</p> |
| <p>Période d'exclusion et période d'interdiction de participation à une autre étude</p> | <ul style="list-style-type: none"> - Il n'existe pas d'interdiction de participation simultanée à une autre recherche pendant la durée de l'étude à la condition que cette recherche ne comporte pas un médicament à l'essai, ni un traitement de la GVHc. Il n'y a pas de période d'exclusion à la sortie de l'étude. - La participation à une autre étude concomitante nécessite l'autorisation du promoteur de cette étude |
| <p>Analyse statistique (de l'objectif principal)</p> | <p>Toutes les analyses statistiques seront effectuées de manière indépendante au sein de la plateforme d'aide méthodologique du CHRU de Lille sous la responsabilité du Pr A. Duhamel. Le logiciel utilisé sera SAS version 9.4 ou supérieure. Tous les tests statistiques seront bilatéraux avec un risque de première espèce de 5%. Pour répondre à l'objectif principal, les variations des populations cellulaires entre la semaine S0 et la semaine S6 seront comparées entre les deux groupes définis selon la réponse clinique à la 10^{ème} semaine par une analyse de la covariance de façon à ajuster l'analyse sur la valeur initiale des populations cellulaires. La validité du modèle sera étudiée par l'analyse des résidus. En cas d'écart des résidus à la normalité, une analyse de la covariance sur les rangs sera utilisée.</p> |
| <p>Durée de l'étude</p> | <p>Durée du recrutement : 2 ans Durée de participation par patient : Environ 40 semaines Analyse de l'étude : 6 mois Durée de l'étude : 3 ans et 6 mois</p> |
| <p>Règles de publication</p> | <p>Pour la partie clinique, les investigateurs sont le Pr I.YAKOUB-AGHA (principal) et le Dr L.MAGRO (Unité d'Allogreffes, Service des Maladies du sang, Hôpital Huriez, CHRU Lille). Pour la partie pratique de la PEC, l'investigateur est le Dr A.LIONET (Service de Néphrologie, Hôpital Huriez, CHRU Lille). Pour la partie immunologique, les responsables scientifiques sont le Pr M.LABALETTE et le Dr P.VARLET (Institut d'Immunologie, Centre de Biologie Pathologie, CHRU Lille).</p> |

II Rationnel

II.1) Prise en charge de la maladie chronique du greffon contre l'hôte

De nos jours l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (allo-CSH) reste la principale alternative curative pour traiter des patients atteints de certaines hémopathies malignes. Cependant, la maladie chronique du greffon contre l'hôte (GVHc) constitue la plus fréquente des complications tardives après allogreffe touchant 40 à 60% des patients, dont 20-50% ont développé une GVH aiguë au préalable. (3) Outre son impact sur la qualité de vie des malades (4), la GVHc est responsable du tiers des décès chez les patients qui ne rechutent pas après la greffe.

La prévalence et la sévérité de la GVHc ne cesse d'augmenter ces 20 dernières années devant l'essor de l'allogreffe notamment chez les patients plus âgés, la pratique de la greffe non apparentée, l'utilisation de greffons issues de cellules souches isolées du sang périphérique (CSP) ou encore le recours aux réinjections de lymphocytes du donneur (DLI) post-greffe qui sont des facteurs de risques de survenue de GVHc. (5–8)

La GVHc apparaît essentiellement à partir de J100. La symptomatologie est celle d'une maladie auto-immune. En raison de la multiplicité des organes cibles possibles, le tableau clinique est polymorphe avec atteinte cutanée quasi constante, atteinte des muqueuses, atteinte hépatique très fréquente, atteinte pulmonaire et atteinte d'autres organes, en fréquence et sévérité variables. La GVHc est classée selon le site et la sévérité des atteintes selon la conférence de consensus du NIH (National Institutes of Health) de 2005, revue en 2014. (9,10)

Pour traiter la GVHc l'une des stratégies thérapeutiques est l'association du traitement immunosuppresseur (**corticoïdes** par voie générale à 1-2 mg/kg et la **ciclosporine**) (6,11,12) avec la **photophérese extracorporelle** (PEC) procédé thérapeutique immunomodulateur associant la leucaphérese et l'irradiation ultraviolette A (UVA) en présence de psoralène (8-MOP) des cellules mononucléées (CMN). Les recommandations des ateliers de la SFGM-TC de septembre 2014 (ANNEXE 10) sont de réaliser en phase d'induction 2 séances de PEC /semaine puis une phase d'entretien à 1 séance de PEC/ 2 semaines tout en diminuant en parallèle l'immunosuppression selon la réponse clinique du patient.

Une revue descriptive (13) rapporte un taux moyen de réponse globale de 72% pour l'atteinte cutanée, 63% pour l'atteinte hépatique et 74% pour l'atteinte digestive. Un essai randomisé publié en 2008 (14) évaluant l'efficacité et la sécurité de la PEC dans la GVHc par rapport aux traitements classiques montre une amélioration globale (réduction du score cutané >25% et une réduction de la consommation de corticoïdes >50%) significative dans le groupe PEC.

L'effet thérapeutique de la PEC semble reposer sur plusieurs effets biologiques. (15) Le 8-MOP après pénétration dans les lymphocytes et activation par les UVA inhibe la réplication et la transcription génique puis entraîne l'arrêt de la prolifération des cellules traitées. Les cellules traitées sont alors rapidement éliminées de l'organisme par apoptose. (16) La PEC exerce un effet cytotoxique direct sur 5 à 10% des lymphocytes T effecteurs. (17) Les corps apoptotiques lymphocytaires induits peuvent être phagocytés par des monocytes macrophages induisant une réponse tolérogène. (18) Cette thérapie permet de générer la différenciation de monocytes en cellules dendritiques tolérogènes avec induction de lymphocytes T régulateurs. Néanmoins, il persiste beaucoup d'interrogations sur le mécanisme d'action de ce traitement, notamment sur le profil des cellules T régulatrices induites, la destruction de cellules T activées du receveur allo et auto-réactives et l'immunomodulation induite par la réinjection des cellules pro-apoptotiques générées. A ce jour aucun biomarqueur prédictif de l'efficacité de la PEC n'a été mis en évidence. (19)

Ainsi, de nombreuses équipes dénoncent **le manque d'études prospectives** associant à l'approche clinique l'exploration immunologique fine du mécanisme d'action de la PEC dans la GVHc. (19–21)

II.2) Rationnel de l'étude

L'objectif principal de cette étude est d'explorer la **dynamique des populations immunocompétentes circulantes au décours des séances de PEC et du traitement immunosuppresseur (prednisone+ciclosporine) chez des receveurs traités pour une GVHc inaugurale**. Ce projet a pour but d'éclaircir la mécanistique immunologique de ce traitement immunomodulateur et son effet bénéfique sur la GVHc. Pour cela nous allons étudier la variation des populations cellulaires circulantes chez des malades traités par PEC entre la prise initiale du traitement et la 6^e et 22^e semaine de traitement. Ces données seront interprétées en fonction de la réponse clinique des patients.

L'originalité de l'étude est de proposer une approche immunologique multicentrique avec une prise en charge thérapeutique commune des patients inclus (PEC en 2 temps selon le même schéma) et évaluation des réponses selon les critères du NIH 2014 (2).

III Objectif de la recherche

III.1) Objectif principal

Objectif principal :

Etude de la variation des populations immunocompétentes circulantes chez des patients répondeurs (RC, RP) et non répondeurs (NR, RMX, Progression) traités par PEC entre la prise initiale de traitement et la 6^e semaine de traitement. La réponse clinique sera évaluée à la 10^e semaine de traitement (au moment du switch entre la phase d'induction et la phase d'entretien).

La PEC est un procédé thérapeutique associant la leucaphérèse et l'irradiation ultraviolette A (UVA) en présence de psoralène (8-MOP) des cellules mononucléées. Cette stratégie immunomodulatrice permet d'obtenir de bons résultats pour le traitement des GVHc et notamment lorsqu'elle est utilisée précocément (22–24). Son mode d'action n'est pas vraiment élucidé : la destruction de cellules T activées du receveur, allo et auto-réactives et l'immunomodulation induite ultérieurement par la réinjection des cellules pro-apoptotiques générées font partie des mécanismes envisagés. Le but de notre approche est de comparer la composition cellulaire du sang circulant (Annexe 1) chez des patients traités par PEC à différents temps (S0 vs S6) en séparant les patients en sous-groupes en fonction de la réponse au traitement. Par cette analyse le mécanisme d'action de la PEC sur les cellules circulantes permettant d'obtenir une réponse clinique pourra être élucidé.

III.2) Objectifs secondaires

Objectifs secondaires :

- 1) Comparaison de la variation des sous populations immunocompétentes chez des patients répondeurs et non répondeurs entre la prise initiale du traitement et la 22^e semaine de traitement dans la GVHc inaugurale.
- 2) Estimer l'efficacité de la PEC dans la GVHc inaugurale en association avec le traitement immunosuppresseur (prednisone + ciclosporine)
- 3) Comparaison de la variation de biomarqueurs sériques et tissulaires chez des patients répondeurs et non répondeurs entre la prise initiale du traitement et la 6^{ème} semaine

Il n'existe aujourd'hui aucun biomarqueur identifié comme prédictif de l'efficacité du traitement sur la GVHc. Quelques études immunologiques ont été réalisées sans les corrélés à une évaluation clinique régulière selon les critères du NIH 2014. (25–28)

L'efficacité de la PEC est en général mise en évidence après 3 mois de traitement avec l'apparition de l'amélioration clinique (29).

Cette étude exploratoire (prélèvements de sang et biopsies) est indispensable pour mettre en évidence la présence de biomarqueurs précoces et prédictifs de l'efficacité **de la PEC de traitement de GVHc ce qui permettrait une meilleure prise en charge des malades atteints de GVHc.**

- 4) Évaluer l'évolution de la qualité de vie des patients traités à la 10^e semaine et à la 22^e semaine de traitement

IV Conception de la recherche

IV.1) Plan expérimental

Etude exploratoire multicentrique prospective de cohorte de patients devant bénéficier d'un traitement par PEC.

Dès la suspicion d'une GVHc inaugurale, les patients doivent avoir une première consultation permettant l'évaluation de la GVHc dans le service d'hématologie et de greffe de moelle. Si le patient est considéré comme incluible dans l'étude, le protocole lui est expliqué de façon éclairé par l'investigateur principal. Après une période de réflexion suffisante, l'inclusion dans l'étude est faite lors d'une seconde consultation. Après vérification du respect des critères d'inclusion, le traitement immunosuppresseur associant la prednisone (1,5mg/kg/jour en 2 prises) et la ciclosporine

(3mg/kg/jour en 2 prises) est instauré. Le bilan pour analyse immunologique est réalisé et la première séance de PEC doit être programmée rapidement pour un démarrage au plus tard sous 3 jours après le début du traitement immunosuppresseur. Le rythme des séances de PEC en phase d'induction est de 2 séances/semaine pendant 10 semaines.

Si obtention d'une réponse au moins partielle (RP) à la 10^e semaine de traitement, la phase d'entretien est débutée avec un passage à 1 séance de PEC/ 2 semaines.

Si non réponse (NR) ou réponse mixte (NMX) à la 10^e semaine de traitement, le patient sort de l'étude (les prélèvements immunologiques sont à réaliser à la date de sortie de l'étude).

Si progression à tout moment de l'étude, le patient sort pour une prise en charge adaptée et laissée à l'appréciation du clinicien (les prélèvements immunologiques sont à réaliser à la date de sortie de l'étude).

Le suivi clinique de tous les patients inclus (même en cas de sortie de l'étude) est prévu par le protocole pendant 40 semaines.

IV.2) Définition de la population étudiée

1) Critères d'inclusion :

- Patients âgés de ≥ 18 ans ayant eu une première allo-CSH pour une pathologie hématologique
- Poids corporel ≥ 40 kg.
- Diagnostic confirmé de GVHc inaugurale nécessitant un traitement systémique.

Le diagnostic de GVHc doit être fondé sur le consensus du groupe de travail du NIH (www.asbmt.org/gvhd/index.htm) et selon l'harmonisation des pratiques sur la prise en charge de la réaction chronique du greffon contre l'hôte édité sur le site <http://dahpa2011.sfgm-tc.com> (Cf. Annexe 2 - Pratique d'harmonisation dans les allogreffes de cellules souches hématopoïétiques).

La classification de la GVHc reposera sur les manifestations cliniques, notamment :

- a/ les symptômes oculaires, oraux et muqueux
- b/ le bilan de performance.
- c/ l'évaluation des fonctions pulmonaires
- d/ l'évaluation cutanée
- e/ l'évaluation des manifestations musculo-squelettiques
- f/ l'évaluation de l'atteinte hépatique
- N'importe quelle source de cellules souches hématopoïétiques est autorisée.
- Tous les traitements de conditionnement sont autorisés.
- Patient validé par l'investigateur local comme étant éligible à un traitement par PEC selon les critères des centres investigateurs
- Patient traité selon le schéma de l'étude avec une PEC en 2 temps
- Patient ayant signé un consentement éclairé.
- La prophylaxie de la GVH maintenue lors de l'apparition de la GVHc est acceptée.
- Affiliation au régime de sécurité sociale.
- Contraception efficace pour les hommes et femmes en âge de procréer.

2) Critères de non inclusion :

- Patients ≤ 18 ans
- GVHc $\geq 2^e$ ligne de traitement
- GVHc pulmonaire exclusive
- GVHc avant J100
- GVHc limitée ne nécessitant pas de traitement systémique
- GVHc survenant après DLI
- Overlaps GVHa-GVHc
- GVHa tardive
- Patient en rechute ou maladie évolutive
- Infection non contrôlée
- Seconde allogreffe
- Leucopénie $< 0.5G/l$ au screening
- Contre-indication absolue à la ciclosporine Néoral[®]
- Traitement par corticothérapie ≥ 0.1 mg/kg/jour au moment de l'inclusion
- Désir de grossesse jusqu'à 6 semaines après la dernière séance de photophérèse.
- Femme enceinte ou allaitante.

IV.3) Critères d'évaluation

Critère principal, permettant de répondre à l'objectif principal :

La variation des populations cellulaires entre la semaine S0 et la semaine S6 caractérisées par cytométrie en flux selon les marquages membranaires déterminés par l'Annexe 1:

- Sous-populations lymphocytaires (sous-populations T, B, T régulateurs, polarisation T, T *follicular helper*)
- Sous-populations monocytaires
- Cellules dendritiques (myéloïdes et plasmacytoïdes)

Une évaluation de l'apoptose cellulaire est également réalisée ainsi que des tests fonctionnels (test de prolifération lymphocytaire ...).

La réponse clinique à la semaine S10 (lors du switch entre la phase d'induction et celle d'entretien) est définie conformément aux critères proposés par le consensus de NIH 2014, classée en deux groupes : les répondeurs (RC, RP) et les non répondeurs (NR, RMX, Progression).

Critères secondaires permettant de répondre aux objectifs secondaires :

Critère secondaire n°1

La variation des populations cellulaires entre la semaine S0 et la semaine S22 caractérisées par cytométrie en flux selon les marquages membranaires déterminés par l'Annexe 1:

- Sous-populations lymphocytaires (sous-populations T, B, T régulateurs, polarisation T, T *follicular helper*)
- Sous-populations monocytaires
- Cellules dendritiques (myéloïdes et plasmacytoïdes)

Une évaluation de l'apoptose cellulaire est également réalisée ainsi que des tests fonctionnels (test de prolifération lymphocytaire ...).

La réponse clinique à la semaine S22 est définie conformément aux critères proposés par le consensus de NIH 2014 classée en deux groupes : les répondeurs (RC, RP) et les non répondeurs (NR, RMX, Progression).

Critère secondaire n°2

L'efficacité de la PEC est évaluée par :

- Taux de réponse à **10 semaines** (rémission complète et partielle) après un traitement de première ligne associant au traitement immunosuppresseur la PEC chez des patients atteints d'une GVH chronique inaugurale
- Taux de réponse à **22 semaines** (rémission complète et partielle) après un traitement de première ligne associant au traitement immunosuppresseur la PEC chez des patients atteints d'une GVH chronique inaugurale
- Incidence cumulée de la récurrence de la GVHc
- Survie globale (SG) à un an
- Incidence de la NRM (Mortalité liée à l'allogreffe sans récurrence de la maladie hématologique sous-jacente)

Critère secondaire n°3

- La variation à 6 semaines **de biomarqueurs sériques par approche cytokinique :**

Etude des cytokines de la réponse Th1, Th2, Th17, des cytokines anti-inflammatoires, des marqueurs de fibrose et des marqueurs de GVHc par cytométrie en flux, ELISA et techniques multiplex (BAFF sérique, ratio BAFF/B cells...). Ces marqueurs ont été sélectionnés sur la base de données bibliographique incluant les biomarqueurs de la GvHc ainsi que ceux retenus dans les hypothèses mécanistiques de la PEC.

Les résultats à la 6^{ème} semaine seront à mettre en perspective avec ceux de la 10^{ème} et jusqu'à la 40^{ème} semaine afin d'éviter tout artefact biologique.

- La variation à 6 semaines de biomarqueurs tissulaires par approche cellulaire :

Immunomarquage des infiltrats cellulaires sur les biopsies cutanées (microscopie à fluorescence). Les résultats sur la biopsie à la 6^{ème} semaine seront à mettre en perspective avec ceux de la 22^{ème} semaine afin d'éviter tout artefact biologique.

Les réponses cliniques prises en compte pour chacune des approches seront celles déterminées à la 10^{ème} et à la 22^{ème} semaine.

Critère secondaire n°4

Les variations des scores de qualité de vie (QLQ-C30) entre l'inclusion et la 10^e et 22^e semaine de traitement seront calculées selon l'annexe 3. Les résultats des scores à la 40^{ème} semaine seront indispensables pour valider l'impact durable sur la qualité de vie.

Evaluation de la réponse clinique:

La réponse clinique est définie conformément aux critères proposés par le consensus de NIH 2014 (2)

- **La réponse complète (RC)** est définie comme la résolution de toutes les manifestations de GVHc cutanée (en termes de sclérose, éruption érythémateuse ou ulcères) et la résolution de toutes les manifestations liées à la GVHc dans les organes spécifiques atteints, sauf certaines modifications irréversibles.

- **La réponse partielle (RP)** est une amélioration du score de base qui reflète un bénéfice clinique supérieur à la mesure d'erreur de l'outil d'évaluation : ex amélioration d'un point ou plus pour une échelle de 4 à 7 points, 2 points pour une échelle de 10 à 12...

Elle est établie, en fonction de la réponse évaluée dans les principaux organes atteints :

- Pour l'atteinte cutanée généralisée :

* toute amélioration du score de réponse cutanée établi par le NIH dans l'échelle 0 à 3

- Pour l'appareil respiratoire :

* amélioration de 10% ou plus pour un VEMS de base de moins de 70%

- Pour l'atteinte Gastro Intestinale :

* amélioration de 50% ou plus des transaminases, PAL ou Bilirubine totale

- **La non réponse (NR)** est définie comme l'absence de modification des manifestations de la GVHc ou toute situation ne répondant pas aux critères mentionnés plus haut pour la RP; les patients qui décèdent précocement en raison de la GVHc avant le moment choisi pour l'évaluation de la réponse, ainsi que ceux nécessitant une augmentation de la dose de corticoïdes seront considérés comme présentant une NR.

- **La progression de la maladie (PM)** est définie comme toute aggravation d'un point ou plus pour l'échelle de 0 à 3 pour l'atteinte oculaire, cutanée, gastro-intestinale et œsophagique, sauf de 0 à 1.

Pour une GVH articulaire toute aggravation d'un point ou plus est considérée comme une progression.

Pour une GVH buccale toute aggravation de 2 points ou plus est considérée comme une progression

Pour une GVH hépatique une augmentation de 2 fois au plus de la limite maximale pour les transaminases, PAL ou bilirubine totale.

Pour une GVH pulmonaire une diminution de 10 % ou plus du VEMS est considéré comme une progression si le VEMS final est <65%. Si le bilan fonctionnel n'est pas disponible l'aggravation du score clinique d'un point ou plus est considéré comme une progression (sauf de 0 à 1 considéré comme trivial)

- **Une réponse mixte (RMX)** est définie par une RC ou une RP au moins au niveau d'un organe accompagnée par la progression dans un autre organe. Cette catégorie doit être considérée comme une progression pour l'analyse. Elle peut identifier une réponse spécifique d'organe.

Les réponses NR, PM et RMX seront considérées comme des échecs de traitement.

La réponse doit être évaluée :

- Toutes les **2 semaines pendant 10 semaines** (traitement d'induction).

- Toutes les **2 semaines pendant 12 semaines** (traitement d'entretien): réponse complète (RC), réponse partielle (RP), aucune réponse (NR) et progression de la maladie (PM), conformément aux critères d'évaluation internationaux.

IV.4) Calcul du nombre de sujets

L'objectif de cette étude est de comparer la variation des populations cellulaires entre la semaine S0 et la semaine S6 selon la réponse clinique à S10. On ne dispose pas de données préliminaires permettant d'estimer une différence attendue sur la variation des populations cellulaires entre les 2 groupes, c'est l'objet de cette recherche de l'estimer. Il s'agit donc d'une étude exploratoire. Nous proposons de recruter 40 patients, soit 26 patients répondeurs sous l'hypothèse d'un taux de réponse clinique (réponse complète + réponse partielle) de 65%. Avec cet effectif, avec une puissance de 80% et un risque de première espèce de 5%, nous pourrions mettre en évidence une taille d'effet de 0.95 considérée comme large selon Cohen.

IV.5) Méthode et stratégie d'analyse

Toutes les analyses statistiques seront effectuées de manière indépendante au sein de la plateforme d'aide méthodologique du CHRU de Lille sous la responsabilité du Pr A. Duhamel. Le logiciel utilisé sera SAS version 9.4 ou supérieure. Tous les tests statistiques seront bilatéraux avec un risque de première espèce de 5%. Il n'est pas prévu de faire des analyses intermédiaires.

Les variables qualitatives seront décrites par les effectifs et pourcentages. Les variables quantitatives seront décrites par la moyenne et l'écart type en cas de distribution gaussienne, ou par la médiane et l'interquartile (i.e. 25^{ième} et 75^{ième} percentiles) dans le cas contraire. La normalité des distributions sera testée par un test de Shapiro-Wilk et vérifiée graphiquement par des histogrammes.

Objectif principal : Les variations des populations cellulaires entre la semaine S0 et la semaine S6 seront comparées entre les deux groupes définis selon la réponse clinique à la 10^{ème} semaine par une analyse de la covariance de façon à ajuster l'analyse sur la valeur initiale des populations cellulaires. La validité du modèle sera étudiée par l'analyse des résidus. En cas d'écart des résidus à la normalité, une analyse de la covariance sur les rangs sera utilisée.

Objectif secondaire n°1 : La comparaison de la variation des populations cellulaires entre la prise initiale de traitement et la 22^e semaine de traitement entre les patients répondeurs et non répondeurs à la 22^{ème} semaine sera réalisée par la même stratégie d'analyse que pour l'objectif principal.

Objectif secondaire n°2 : L'efficacité de la PEC sur la GVHc inaugurale en association avec le traitement immunosuppresseur sera mesurée via l'estimation du taux de réponse à 10 semaines et à 22 semaines ainsi que leurs intervalles de confiance à 95%, via l'estimation des courbes de Kaplan-Meier pour la survie globale à un an et via l'estimation de l'incidence cumulée de Kalbfleisch et Prentice pour l'incidence cumulée de la récurrence de la GVHc et l'incidence de la NRM en utilisant le décès comme événement concurrent.

Objectif secondaire n°3 : La comparaison de la variation des biomarqueurs sériques et tissulaires entre la prise initiale de traitement et la 6^e semaine de traitement entre les patients répondeurs et non répondeurs à la 10^{ème} et à la 22^{ème} semaine sera réalisée par la même stratégie d'analyse que l'objectif principal.

Objectif secondaire n°4 : L'évolution de la qualité de vie des patients mesurée à l'inclusion, S10 et S22 sera analysée en utilisant un modèle linéaire mixte pour tenir compte de la corrélation entre les mesures répétées. La validité du modèle sera étudiée par l'analyse des résidus. En cas d'écart des résidus à la normalité, les comparaisons S10-S0 et S22-S0 seront réalisées à l'aide de tests de Wilcoxon pour échantillons appariés.

V Logistique de l'étude

V.1) Équipes participantes

8 centres appartenant à la SFGM-TC. Chaque centre doit avoir un investigateur greffeur et un co-investigateur responsable de la photophérèse extracorporelle si ce dernier est différent.

CHRU de Lille :

- Pour la partie clinique, les investigateurs sont le Pr I.YAKOUB-AGHA (principal) et le Dr L.MAGRO (Unité d'Allogreffes, Service des Maladies du sang, Hôpital Huriez, CHRU Lille).

- Pour la partie pratique de la PEC, l'investigateur est le Dr A.LIONET (Service de Néphrologie, Hôpital Huriez, CHRU Lille).
- Pour la partie immunologique, les responsables scientifiques sont le Pr M.LABALLETTE et le Dr P.VARLET (Institut d'Immunologie, Centre de Biologie Pathologie, CHRU Lille).

L'approche immunologique sera centralisée sur Lille pour l'ensemble des centres participants.

CHU Amiens :

Pr JP MAROLLEAU
Service d'Hématologie clinique et Thérapie cellulaire
CHU d'Amiens Hôpital Sud
Avenue Laënnec Salouël
80054 Amiens Cedex 1
E-mail : marolleau.jean-pierre@chu-amiens.fr

CHU Grenoble :

Pr Frederic GARBAN
Pôle Cancer et Maladies du sang
Hôpital Michallon
CHU Grenoble
38043 Grenoble Cedex 09
E-mail : FGarban@chu-grenoble.fr

CHU Lyon :

Pr M MICHALLET
Hématologie clinique
CHU de Lyon- GH Edouard Herriot
5 place d'Arsonval
69437 Lyon Cedex 03
E-mail : mauricette.michallet@chu-lyon.fr

CHU Montpellier :

Dr S BOUHYA
Hématologie Clinique
Hôpital Lapeyronie
371 avenue du doyen Gaston Giraud
34295 Montpellier Cedex 5

CHU Saint Etienne :

Dr J CORNILLON
Service d'Hématologie Clinique
Institut de Cancérologie Lucien Neuwirth
108 bis avenue Albert Raimond
42271 Saint Priest en Jarez
Email : jerome.cornillon@iloire.fr

CHU Paris Hôpital Saint-Louis :

Pr G SOCIE
Service d'Hématologie Greffe de Moelle
Hôpital Saint Louis
1 avenue Claude-Vellefaux
75010 Paris
E-mail : gerard.socie@paris7.jussieu.fr

CHU Paris Hôpital Pitié-Salpêtrière :

Pr S NGUYEN QUOC
Service Hématologie Greffe de Moelle
Hôpital Pitié-Salpêtrière
47-83 Bd de l'hôpital
75013 Paris
E-mail : stephanie.nguyenkhoc@psl.aphp.fr

V.2) Déroulement pratique de la recherche

VISITE DE SCREENING :

1) Evaluation de la GVHc (ANNEXE 4 et ANNEXE 5)

- Lors d'une consultation dans le service d'hématologie du centre participant, l'investigateur doit dans un premier temps évaluer la GVHc du patient. Seuls les patients répondant aux critères du NIH relatifs à la GVHc extensive nécessitant un traitement par voie générale sont éligibles pour être inclus dans l'étude. Le diagnostic de GVHc extensive est défini conformément au consensus du groupe de travail du NIH. (2)

- Diagnostic de GVHc:

- Présence d'au moins un signe de GVHc ou d'au moins 1 manifestation distinctive confirmée par des résultats de biopsie ou d'autres examens pertinents
- Diagnostic différentiel de GVHc à exclure, par exemple : toxicité, infection
- Signes distinctifs de GVHc au niveau de la peau et des annexes, de la bouche, des yeux, des organes génitaux féminins, du tube digestif, des poumons et des tissus conjonctifs.

- Définition d'une GVHc limitée et d'une GVHc extensive

- ✓ Une GVHc limitée est définie par au moins un des deux critères suivants :
 1. Atteinte cutanée localisée
 2. Dysfonctionnement hépatique dû à la GVHc
- ✓ Une GVHc extensive est définie de la façon suivante :

Présence de :

1. Atteinte cutanée généralisée ou
2. Atteinte cutanée localisée et/dysfonctionnement hépatique dû à la GVHc, avec en plus :
 - a. Histologie hépatique montrant une hépatite agressive chronique, une nécrose ou une cirrhose ou
 - b. Atteinte oculaire : test de Schirmer avec humidification < 5 mm ou
 - c. Atteinte des glandes salivaires mineures ou de la muqueuse buccale mises-en évidence sur la biopsie labiale ou
 - d. Atteinte de n'importe quel autre organe cible.

2) Présentation éclairée du protocole « Immuno-PEC » au patient en vue de la signature du consentement (Annexe 9)

3) Evaluations de pré-traitement

- Outre l'évaluation de la GVHc, les évaluations classiquement réalisées dans la prise en charge de la GVHc devront être effectuées dans les 7 jours précédant le début de l'étude :

- Antécédents médicaux
- Examen clinique, y compris signes vitaux, poids, bilan de performances
- Numération formule sanguine complète (NFS)
- Biochimie sanguine : glucose, sodium, potassium, créatinine, calcium, protéines totales, albumine, bilirubine totale, phosphatases alcalines, SGOT (ASAT), SGPT (ALAT), LDH
- Radiographie thoracique
- Explorations fonctionnelles pulmonaires (DLCO et/ou VEMS)
- Questionnaire de qualité de vie
- Evaluation du statut de la maladie initiale

Pour les patientes incluables et en âge de procréer un test de grossesse sanguin devra être réalisé (examen en surcoût).

4) Médicament concomitant

Traitement immunosuppresseur présent à l'inclusion

- Corticoïdes <0.1 mg/kg/jour utilisés soit en prophylaxie, soit en traitement d'une GVHa complètement résolue (au moins 1 mois avant l'inclusion du patient)

- Ciclosporine tolérée

Liste des médicaments interdits

- Tout traitement systémique de GVH qui n'était pas prescrit à l'inclusion dans l'étude.

Le traitement systémique inclut toutes les interventions destinées à contrôler la GVHc par un effet immunosuppresseur d'un médicament systémique qu'il soit administré par voie orale ou parentérale, et non fourni initialement dans la cadre de ce protocole.

Les exemples sont notamment les suivants : rituximab, azathioprine, rapamycine, infliximab, daclizumab, étanercept, globuline antithymocyte, thalidomide, chloroquine, clofazimine

Un traitement topique, y compris les crèmes aux corticoïdes, le tacrolimus topique, la béclo méthasone ou le budésonide topiques, l'azathioprine topique et les corticoïdes ophtalmiques, n'est pas considéré comme un traitement systémique secondaire.

Le remplacement de la ciclosporine par le tacrolimus en raison d'effets indésirables médicamenteux n'est pas autorisé.

5) Procédure d'inclusion :

A l'issue des évaluations du screening, de la signature du consentement et après vérification des critères d'inclusion et de non-inclusion, le patient sera inclus dans l'étude (S0).

Pour l'inclusion, chaque centre devra envoyer un fax d'inclusion à l'ARC en charge du projet afin que soit attribué au patient un numéro d'inclusion.

L'enregistrement des patients inclus sera réalisé dans le CRF de l'étude. Ce numéro servira de référence pour tout échange avec le promoteur.

➤ Calendrier des évaluations (ANNEXE 6)

La marge de tolérance autorisée pour établir le planning des visites est de +/- 3 jours.

Visite S0 (au maximum 7 jours après le screening)

Après une vérification des critères d'inclusion et de non-inclusion suite aux bilans réalisés lors de la visite de screening : inclusion du patient dans l'étude.

Les examens à réaliser seront les suivant :

- Evaluation de la GVHc
- Examen clinique (signes vitaux, poids)
- Prélèvement pour analyse immunologique
 - o sang circulant : 2 tubes EDTA, 2 tubes héparines, 2 tubes secs
 - o biopsie cutanée : optionnelle si atteinte cutanée
- Evaluation des événements indésirables
- Mise en place du traitement immunosuppresseur : prednisone **1,5 mg/kg/jour** répartie en 2 prises le matin et le midi, ciclosporine **3 mg/kg/jour** répartie en 2 prises
- Planification des séances de PEC au rythme de 2 séances/semaine (la première séance devant débuter au maximum 3 jours après la visite S0)

Visite S2

- Evaluation de la GVHc
- Examen clinique (signes vitaux, poids)
- Prélèvement pour analyse immunologique
 - o sang circulant : 2 tubes EDTA, 2 tubes héparines, 2 tubes secs
- Evaluation des événements indésirables
- Questionnaire de qualité de vie

Visite S6

- Evaluation de la GVHc
- Examen clinique (signes vitaux, poids)
- Numération formule sanguine complète (NFS)
- Prélèvement pour analyse immunologique
 - o sang circulant : 2 tubes EDTA, 2 tubes héparines, 2 tubes secs
 - o biopsie cutanée : optionnelle si atteinte cutanée
- Evaluation des événements indésirables
- Questionnaire de qualité de vie

Visite S10

- Evaluation de la GVHc
- Examen clinique (signes vitaux, poids)
- Prélèvement pour analyse immunologique
 - o sang circulant : 2 tubes EDTA, 2 tubes héparines, 2 tubes secs
- Evaluation des événements indésirables
- Questionnaire de qualité de vie

Visite S16

- Evaluation de la GVHc
- Examen clinique (signes vitaux, poids)
- Prélèvement pour analyse immunologique
 - o sang circulant : 2 tubes EDTA, 2 tubes héparines, 2 tubes secs
- Evaluation des événements indésirables
- Questionnaire de qualité de vie

Visite S22 (Fin du traitement protocolaire)

- Evaluation de la GVHc
- Examen clinique (signes vitaux, poids)
- Prélèvement pour analyse immunologique
 - o sang circulant : 2 tubes EDTA, 2 tubes héparines, 2 tubes secs
 - o biopsie cutanée : optionnelle et sous réserve du consentement du patient, si atteinte cutanée
- Evaluation des événements indésirables
- Questionnaire de qualité de vie

Visite S40 (Fin d'étude protocolaire)

- Evaluation de la GVHc
- Examen clinique (signes vitaux, poids)
- Prélèvement pour analyse immunologique
 - o sang circulant : 2 tubes EDTA, 2 tubes héparines, 2 tubes secs
 - o biopsie cutanée : optionnelle et sous réserve du consentement du patient, si atteinte cutanée
- Evaluation des événements indésirables
- Questionnaire de qualité de vie

Sortie prématurée de l'étude

- Evaluation de la GVHc
- Examen clinique (signes vitaux, poids)
- Prélèvement pour analyse immunologique
 - o sang circulant : 2 tubes EDTA, 2 tubes héparines, 2 tubes secs
 - o biopsie cutanée : optionnelle et sous réserve du consentement du patient, si atteinte cutanée
- Evaluation des événements indésirables
- Questionnaire de qualité de vie

Les questionnaires remplis par les patients devront être retournés sous pli scellé au promoteur du CHRU de Lille où toutes les données de l'essai sont centralisées.

Outre les visites imposées par l'étude, le rythme de suivi des patients est laissé à l'appréciation du clinicien hématologue.

Toute suspicion de rechute de la maladie initiale (indication de l'allogreffe) est à signaler au promoteur de l'étude.

| Flow-Chart Protocole Immuno-PEC | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|-----------|-------------------|----|----|--------|----|-----|-------------------|-----|-----|-----|-----|-------------------------------------|-----------------------|------------------------------|
| Planning des visites (+/- 3 jours) | Screening | Phase d'induction | | | | | | Phase d'entretien | | | | | | Suivi Post traitement | Sortie de l'étude prématurée |
| | | S0 | S2 | S4 | S6 | S8 | S10 | S12 | S14 | S16 | S18 | S20 | S22/ Fin de traitement protocolaire | S40/Fin d'étude | |
| Information du patient sur le protocole | X | | | | | | | | | | | | | | |
| Consentement signé | X | | | | | | | | | | | | | | |
| Critères d'inclusion/non-inclusion | X | X | | | | | | | | | | | | | |
| Evaluation de la GVHc | X | X | X | | X | | X | | | X | | | X | X | X |
| Examen clinique (signes vitaux, poids) | X | X | X | | X | | X | | | X | | | X | X | X |
| Prélèvement pour analyse immunologique ² Sang circulant ³ Biopsie cutanée ⁴ | | X X | X | | X X | | X | | | X | | | X X | X | X X |
| Test de grossesse ⁵ | X | | | | | | | | | | | | | | |
| Questionnaire de la qualité de vie | X | | X | | X | | X | | | X | | | X | X | X |
| Evénements indésirables | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |

1 Les évènements indésirables sont à reporter pendant une durée de 15 jours après la fin de l'étude ou la sortie prématurée

2 A réaliser du lundi au jeudi hors jours fériés

3 Tubes à prélever : 2 tubes EDTA, 2 tubes héparine, 2 tubes secs (détail des tubes pour envoi en Immunologie à Lille pour reception sous 24 heures : 2 tubes EDTA , 1 tube Héparine, tubes pour collection à envoyer au CRB/CIC1403 du centre pour centrifugation sous 2 heures : 2 tubes Sec, 1 tube EDTA)

4 Biopsie cutanée optionnelle à faire uniquement chez les patients ayant des atteintes cutanées à S0 et ayant consentis à ce prélèvement

5 Exploration dans le cadre du soin courant

NB : Une NFS est à réaliser dans les 24 heures avant chaque séance de PEC

V.3) Durée

Durée du recrutement : 2 ans

Durée de participation par patient inclus : Environ 40 semaines

Analyse de l'étude: 6 mois

Durée de l'étude: 3 ans et 6 mois

V.4) Critères d'arrêt de participation à l'étude

Un arrêt prématuré est défini par l'arrêt de la participation avant la fin de l'étude d'un patient sélectionné pour participer à l'étude.

Les critères d'arrêt prématuré de l'étude sont les suivants :

- Refus du patient de poursuivre l'étude
- Interruption de l'étude conformément à la décision du promoteur ou des autorités réglementaires.

En cas d'arrêt prématuré pendant la période de sélection, le patient sera remplacé et ses données ne seront pas prises en compte dans l'analyse.

Le promoteur pourra arrêter l'étude en cas de nombre insuffisant de patients recrutés.

L'étude pourra également être interrompue en accord avec les autorités sanitaires, le promoteur et le coordinateur.

Chaque sujet pourra sortir de l'étude par décision de l'autorité administrative compétente, du promoteur et de l'investigateur coordonnateur mais aussi par décision d'un co-investigateur ou par décision de l'intéressé lui-même conformément à la réglementation et comme il est mentionné dans le formulaire de recueil du consentement.

V.5) Interdiction de participation simultanée – période d'exclusion

Il n'existe pas d'interdiction de participation simultanée à une autre recherche pendant la durée de l'étude à la condition que cette recherche ne comporte pas un médicament à l'essai, ni un traitement de la GVHc.

Il n'y a pas de période d'exclusion.

Néanmoins la participation simultanée à une autre étude nécessite l'accord du promoteur de celle-ci.

VI) Traitement

VI.1) Traitement immunosuppresseur : Prednisone et Ciclosporine

- La prednisone

La dose de prednisone à l'inclusion est de **1,5 mg/kg/jour** répartie en 2 prises le matin et le midi pendant 2 semaines. Les règles de prescription et de suivi du traitement sont laissées à l'appréciation des investigateurs.

- La ciclosporine

La ciclosporine Néoral[®] est démarrée à **3mg/kg/jour** en 2 prises (pour les patients déjà sous ciclosporine une augmentation des posologies est nécessaire). Une adaptation de la dose est réalisée afin d'obtenir un taux résiduel (To) **entre 200 à 400 ng/ml : ciclosporinémie résiduelle**.

Les règles de prescription et de suivi du traitement sont laissées à l'appréciation des investigateurs.

Aux visites S2, S6, S10, S16, S22 et S40, une évaluation de la GVHc et de la qualité de vie doit être réalisée (Annexe 3, Annexe 4 et Annexe 5). L'adaptation du traitement doit être faite selon la réponse au traitement et la semaine de suivi (tableau d'adaptation de dose proposé en Annexe 12).

VI.2) Traitement par photophérèse extracorporelle

La Photophérèse Extra Corporelle (PEC) est un traitement immunomodulateur par la procédure de photophérèse Macopharma Macogénic (avec utilisation du 8-MOP, procédure détaillée en Annexe 11).

Le traitement par PEC en 2 temps doit respecter les critères validés par chacun des centres investigateurs

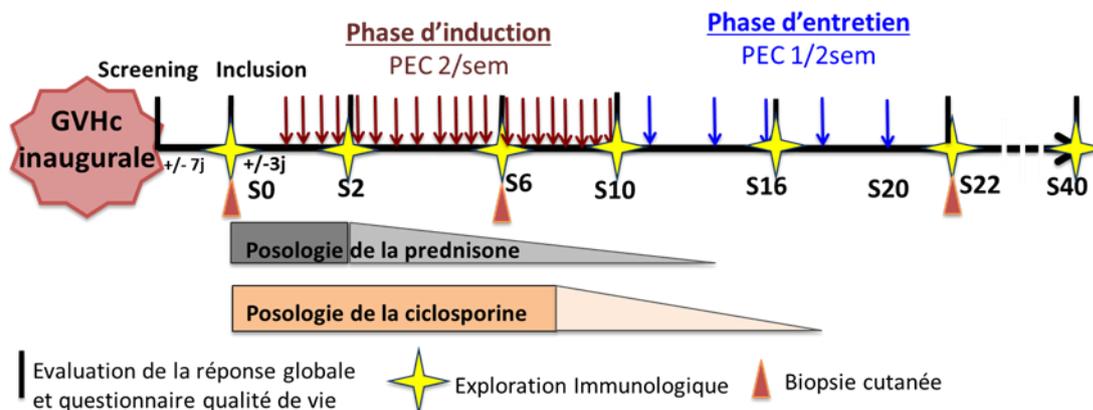
VI.3) Schéma et durée du traitement

Tous les patients seront traités par la combinaison du traitement immunosuppresseur ciclosporine+prednisone. Ils recevront en association un traitement par photophérèse extracorporelle en 2 phases selon les recommandations des ateliers de la SFGM-TC (cf Annexe 10) :

Phase d'induction: PEC 2 séances par semaine pendant 10 semaines

Le traitement immunosuppresseur sera initié à l'inclusion et la première séance de PEC doit être réalisée dans les 3 jours suivant l'inclusion.

Phase d'entretien: une séance/2 semaines pendant 12 semaines +/- 2 semaines pour les patients ayant obtenus au moins une réponse partielle



Un tableau d'adaptation des posologies d'immunosuppresseur est proposé en Annexe 12.

VII) Biologie et collection biologique

VII.1) Prélèvements sanguins dans le cadre du soin

Pour rappel, avant chaque séance PEC (dans les 24h avant) une NFS est réalisée pour s'assurer de la faisabilité de la séance.

Une numération cellulaire peut être faite sur la poche lors de chaque séance de PEC selon les habitudes en vigueur dans les centres investigateurs.

VII.2) Prélèvements dans le cadre de la recherche

Un prélèvement sanguin pour analyse immunologique est prévu avant le début du traitement immunosuppresseur (S0), puis à 2 semaines (S2), 6 semaines (S6), 10 semaines (S10), 16 semaines (S16), 22 semaines (S22) et 40 semaines (S40).

Le prélèvement réalisé à S0 avant prise du traitement est obligatoire pour l'inclusion du patient au protocole.

Les prélèvements pour analyse immunologique sont à programmer du lundi au jeudi hors jours fériés.

Si un patient sort de l'étude un prélèvement pour analyse immunologique sera obligatoirement réalisé lors de la visite de sortie de l'étude à programmer du lundi au jeudi.

- Un envoi de **2 tubes héparines et un tube EDTA** sera réalisé des centres participants au CHRU de Lille par transporteur agréé selon la réglementation des matières dangereuses et les frais d'expédition seront pris en charge par le CHRU de Lille. L'acheminement doit être réalisé pour une réception au CHRU de Lille au plus tard dans les 24 heures après réalisation du prélèvement. Le bon d'envoi est disponible en annexe du protocole (Annexe 7).

VII.3) Prélèvements à conserver en vue d'analyses biologiques ultérieures

Un prélèvement pour collection est prévu avant le début du traitement immunosuppresseur (**S0**), puis à **2 semaines (S2), 6 semaines (S6), 10 semaines (S10), 16 semaines (S16) , 22 semaines (S22) et 40 semaines (S40)**.

Le prélèvement pour collection biologique réalisé à **S0** avant prise du traitement est obligatoire pour l'inclusion du patient au protocole. Les prélèvements pour collection biologique sont à programmer du lundi au jeudi hors jours fériés.

Si un patient sort de l'étude un prélèvement pour collection biologique sera obligatoirement réalisé lors de la visite de sortie de l'étude à programmer du lundi au jeudi.

Détail des prélèvements pour collection :

- Un **tube EDTA (6mL) et les deux tubes secs (6 mL)** seront pris en charge par chaque centre pour centrifugation et aliquotage dans les 2 heures après le prélèvement. Ces aliquots seront conservés par les centres à -80°C puis envoyés au CRB/CIC1403 du CHRU de Lille à la fin de l'étude pour tous les patients inclus dans les centres.
- Une biopsie cutanée à **S0, S6 et S22** sera réalisée de manière optionnelle pour les patients avec atteinte cutanée avérée à S0, après signature du consentement par le patient (ANNEXE 9) pour collection biologique. (Blocs qui sont dédiés recherche sans diagnostic standard).

Description de la biopsie (dédiée recherche):

- biopsie cylindrique de 6mm de diamètre en zone lésée avec mesure du score de Rodnan en regard de la biopsie
- en condition aseptique
- 1 biopsie entière divisée en 2
 - une partie sera envoyée dans le formol au laboratoire d'anatomopathologie pour réaliser une conservation en paraffine à température ambiante
 - une autre partie envoyée dans du RNA later pour congélation à -80°C
- stockage dans les services d'anatomopathologie des centres participants des collections de biopsies
- envoi groupé à Lille des blocs de paraffine à température ambiante et du bloc congelé à la fin de l'étude

Tableau récapitulatif biologie/collection :

| Finalité du prélèvement | Type de prélèvement | Temps d'acheminement | Destination |
|---|---|---|--|
| Approche cellulaire | Sang : 1 tube EDTA, 2 tubes héparines | 24 heures | Laboratoire d'Immunologie Lille |
| Approche cytokinique | Sang : 1 tube EDTA, 2 tubes secs | 2 heures (centrifugation et stockage -80°C) | Conservation au niveau de chaque centres participants puis envoi groupé à la fin de l'étude au CRB/CIC1403 de Lille |
| Etude tissulaire (dédié recherche) | Biopsie cutanée cylindrique Divisée en 2 : - une partie pour acheminement dans le formol - une partie pour acheminement dans RNA later | 2 heures | Laboratoire d'anatomopathologie du centre pour conservation puis envoi au laboratoire d'anatomopathologie de Lille à la fin de l'étude |

VII.4) Gestion et conservation des échantillons

- Prélèvements dans le cadre de la recherche pour approche cellulaire:

Les prélèvements pour analyse immunologique sont à programmer du lundi au jeudi hors jours fériés.

Si un patient sort de l'étude un prélèvement pour analyse immunologique sera obligatoirement réalisé lors de la visite de sortie de l'étude à programmer du lundi au jeudi.

Un envoi **de 2 tubes héparines et un tube EDTA** sera réalisé des centres participants au CHRU de Lille par transporteur agréé selon la réglementation des matières dangereuses et les frais d'expédition seront pris en charge par le CHRU de Lille. L'acheminement doit être réalisé pour une réception au CHRU de Lille au plus tard dans les 24 heures après réalisation du prélèvement. Le bon d'envoi est disponible en annexe du protocole (Annexe 7).

A l'arrivé du prélèvement les analyses cellulaires seront réalisées au sein du laboratoire d'immunologie dans la journée.

- Prélèvements pour collection :

Les prélèvements pour collection biologique sont à programmer du lundi au jeudi hors jours fériés.

Si un patient sort de l'étude un prélèvement pour collection biologique sera obligatoirement réalisé lors de la visite de sortie de l'étude à programmer du lundi au jeudi.

Détail des prélèvements pour collection :

- **Un tube EDTA (6mL) et les deux tubes secs (6mL)** seront pris en charge par chaque centre pour centrifugation et aliquotage dans les 2 heures après le prélèvement. Ces aliquotes seront conservés par les centres à -80°C puis envoyés au CRB/CIC1403 du CHRU de Lille à la fin de l'étude pour tous les patients inclus dans les centres.

Le CRB/CIC9301 assurera la gestion des échantillons biologiques en vue de leur analyse ultérieure, leur stockage et la gestion de ceux-ci dans ses aspects de référencements, de stockage, de traçabilité des entrées, sorties ou incidents pendant toute la durée de la recherche. Ces aspects de l'activité du CRB/CIC9301 sont certifiés conformes à la norme ISO 9001 par l'AFAQ-AFNOR.

Le stockage et la centralisation des produits biologiques sont coordonnés par le CRB/CIC9301 grâce à un logiciel de gestion de prélèvements biologiques qui permet une traçabilité rigoureuse de chaque échantillon.

Ce système utilise des étiquettes spécifiques à codes-barres. Ce logiciel appelé Databiotec[®] est localisé et géré par le CIC de Lille. Son accès est contrôlé par mot de passe. Chaque connexion est enregistrée, et l'accès à la base de données est limité selon un profil personnel d'utilisateur.

Tous les mouvements et événements liés à l'existence d'un échantillon (entrées, sorties, réintégration, incidents de la chaîne de froid) sont enregistrés et interrogeables dans le logiciel.

Ce logiciel de gestion et de traçabilité des échantillons permet de gérer :

- le numéro de code des sujets
- l'étiquetage des échantillons
- le contenu des tubes
- l'appartenance des tubes à un protocole de recherche
- les dates d'entrée et de sortie de la banque
- le type de pathologie
- éventuellement les problèmes rencontrés

Chaque échantillon sera identifié de manière unique : le prélèvement appartient à une étude et à un sujet. L'échantillon est identifié à l'aide d'un code barre. Un lecteur de code barre permet d'accéder automatiquement à toutes les informations de l'échantillon. La méthode et les conditions de prélèvement, les intervenants, les informations cliniques, les examens complémentaires, la contamination, la qualité, la dangerosité, l'emplacement de l'échantillon sont enregistrés.

DataBiotec[®] permet une description précise de tout type de matériel de conservation (conteneurs) en précisant :

- les éléments de stockage : étages, tiroirs, racks, boîtes, puits
- la gestion des emplacements : occupé, réservé, disponible

Il intègre la création de sélection d'échantillons paramétrables qui permettent d'obtenir des regroupements logiques :

- liste des prélèvements et échantillons d'une même journée
- d'une même étude
- de même nature
- pour un même technicien
- dans un même congélateur

La température de stockage des échantillons est contrôlée par des enregistrements continus et les différents conteneurs sont sous alarme centralisée. Un congélateur de secours est disponible afin de pallier rapidement à toute panne.

Les locaux de stockage sont sécurisés (code d'accès électronique, alarme d'intrusion, surveillance vidéo des locaux).

Le Centre de Ressources Biologiques gère, à l'heure d'aujourd'hui, les échantillons biologiques de 70 études, mono- ou multicentriques, régionales, nationales et internationales. Chaque année, le Centre de Ressources Biologiques génère entre 100.000 et 120.000 échantillons biologiques à visée de recherches.

- Une biopsie cutanée à **S0, S6 et S22** sera réalisée de manière optionnelle pour les patients avec atteinte cutanée avérée à S0, pour collection biologique. 1 bloc divisé par le laboratoire d'anatomo-pathologie du centre participant en 3 : 2 pour paraffine et 1 bloc congelé (Blocs qui sont dédiés recherche sans diagnostic standard).
La conservation des biopsies sera réalisé au sein des laboratoires d'anatomo-pathologie des centres participants puis envoyé de manière groupée au laboratoire d'anatomo-pathologie de Lille à la fin de l'étude.

VIII) Etude ancillaire pour les patients inclus à Lille

VIII.1) Objectifs de l'étude

L'étude ancillaire entreprise pour les patients inclus à Lille a pour but d'identifier les mécanismes d'actions cellulaires du traitement par PEC.

Cette approche va permettre d'évaluer la quantité et la composition des cellules traitées par photophérèse après aphérèse.

De plus, par la réalisation d'un prélèvement avant et après traitement par 8-MOP et photoactivation, notre équipe va pouvoir évaluer l'impact direct de la PEC sur les cellules : analyse phénotypique et exploration des propriétés fonctionnelles par des approches de cultures *in vitro*. L'accès aux poches irradiées va permettre d'apprécier l'induction de l'apoptose sur les séances de PEC explorées (P1, P12, P25) par des marqueurs en cytométrie (Annexine V, Iodure de propidium).

La réalisation de culture cellulaire à partir des prélèvements sanguins, va permettre d'explorer la modulation de l'alloréactivité des cellules circulantes au cours du traitement par le suivi de la sécrétion d'interféron-gamma (test ELISPOT) en contact avec un stimulus allogénique (cellule dendritique mature allogénique)

Ces évaluations multiples vont permettre de caractériser les propriétés immunomodulatrices de la PEC dans le temps pour un patient donné en répétant le suivi fonctionnel des cellules.

VIII.2) Prélèvements à des fins de recherche

Un prélèvement avant la séance de 6 tubes héparines sera réalisé (sang circulant).

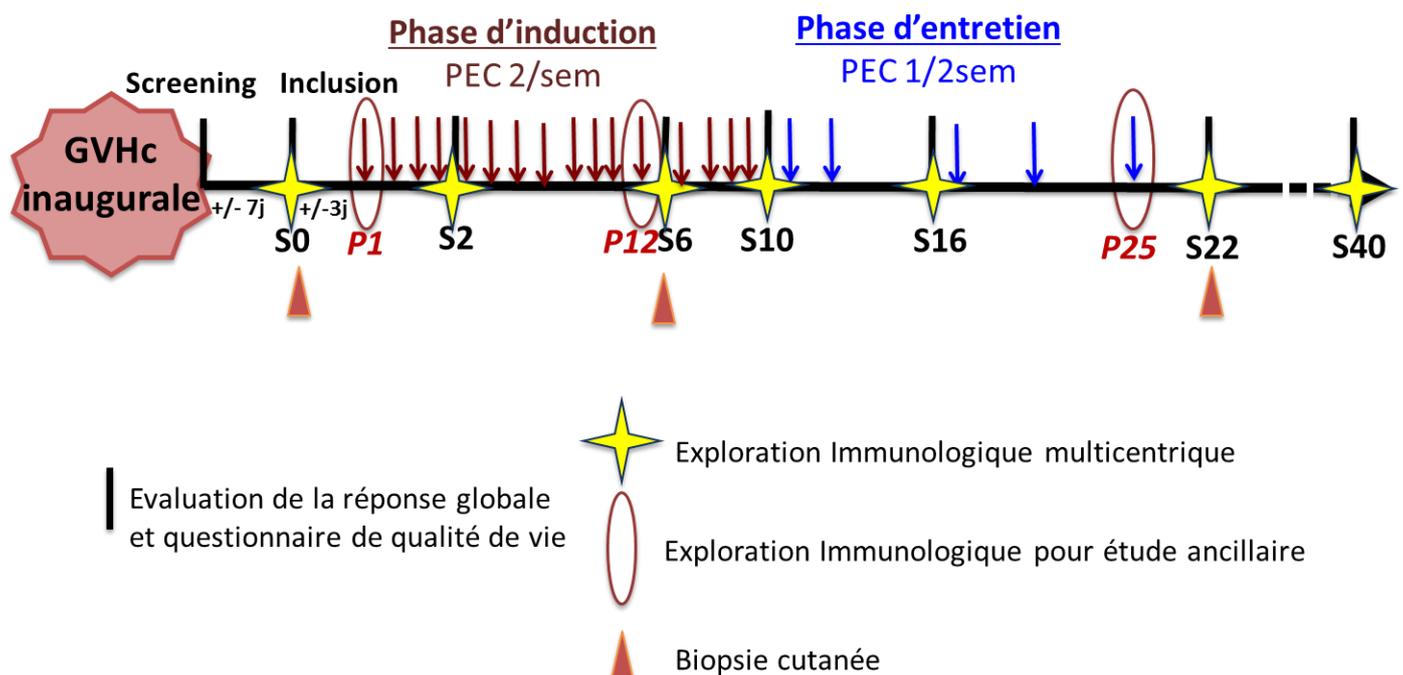
Les prélèvements de cellules mononucléées (CMN) seront effectués directement sur la poche après recueil des cellules : avant injection de 8-MOP et photoactivation et après photoactivation. Le volume prélevé sera de **1 mL** à chaque fois (avant et après traitement par 8-MOP et photoactivation), le prélèvement étant réalisé sur **tube EDTA**.

Ces prélèvements seront réalisés aux séances de PEC suivantes (**P1, P12, P25**) et envoyés au laboratoire d'Immunologie de Lille pour analyse avec le bon d'envoi en Annexe (ANNEXE 8)

Cette étude a pour but de réaliser des cocultures cellules irradiées/ cellules circulantes

Schéma récapitulatif du suivi et des prélèvements pour les patients inclus dans l'étude Ancillaire :

Les modalités pour prélèvements de l'exploration immunologique dans le cadre de l'étude multicentrique restent celles définies par le chapitre VII du protocole.



IX) Evénements indésirables

IX.1) Définitions

* **Evénement indésirable** : toute manifestation nocive survenant chez une personne qui se prête à une recherche impliquant la personne humaine que cette manifestation soit liée ou non à la recherche ou au produit sur lequel porte cette recherche.

* **Effet indésirable** : tout événement indésirable dû à la recherche.

* **Evénement ou effet indésirable grave** : tout événement ou effet indésirable qui :

- entraîne la mort
- met en jeu le pronostic vital de la personne qui se prête à la recherche
- nécessite une hospitalisation ou la prolongation d'une l'hospitalisation
- provoque une incapacité ou un handicap important ou durable
- ou bien se traduit par une anomalie ou une malformation congénitale, et s'agissant du médicament, quelle que soit la dose administrée
- est jugé comme grave sur le plan médical par l'investigateur

* **Effet indésirable inattendu** : tout effet indésirable dont la nature, la sévérité ou l'évolution ne concorde pas avec les informations relatives aux produits, actes pratiqués et méthodes utilisées au cours de la recherche.

* **Fait nouveau** : toute nouvelle donnée pouvant conduire à une réévaluation du rapport des bénéfices et des risques de la recherche ou du produit objet de la recherche, à des modifications dans l'utilisation de ce produit, dans la conduite de la recherche, ou des documents relatifs à la recherche, ou à suspendre ou interrompre ou modifier le protocole de la recherche ou des recherches similaires.

IX.2) Procédures mises en place en vue de l'enregistrement et de la notification des événements indésirables

Responsabilités de l'investigateur :

Pour chaque effet indésirable, l'investigateur évalue la gravité et le lien de causalité entre l'effet indésirable et :

- les actes spécifiques à l'étude,
- ou le protocole.

Seuls les effets indésirables graves susceptibles d'être liés aux actes spécifiques à l'étude ou au protocole seront à notifier au Promoteur.

L'investigateur doit notifier à la Vigilance des soins concernée les effets indésirables non liés à l'étude.

Le suivi des effets indésirables sera assuré par l'investigateur.

Responsabilités du promoteur :

En cas de survenue d'un fait nouveau de sécurité durant cette étude, le promoteur adressera immédiatement, par email, dès qu'il en a connaissance, une déclaration de ce fait nouveau et des éventuelles mesures prises, au CPP et à l'ANSM.

X) Droit d'accès aux données et documents sources

L'investigateur s'engage à accepter les contrôles du promoteur (moniteur et/ou auditeur), ou de l'inspecteur de l'autorité administrative compétente. Il garantit l'accès aux données sources (dossiers médicaux, fichiers informatiques, documents de l'étude).

XI) Contrôle et assurance de la qualité

La démarche Assurance Qualité qui sera mise en œuvre permet de prendre en charge les sujets se prêtant aux recherches dans les meilleures conditions de sécurité et de respect des règles médico-réglementaires.

▪ Déroulement de l'essai

Les observations médicales seront conservées dans le dossier du patient, les données concernant l'étude seront reportées sur les cahiers d'observation prévus pour l'étude, selon les bonnes pratiques cliniques, reprenant les différentes étapes de la prise en charge du patient dans le protocole. Tout écart au protocole sera notifié ainsi que sa raison. Le recueil des données devra être exhaustif et sera régulièrement vérifié par un Assistant de Recherche Clinique selon les procédures du protocole (si applicable).

▪ Monitoring de l'étude

Le monitoring de l'essai sera effectué sur déclenchement spécifique par un ARC du promoteur. Il sera fonction des inclusions réalisées dans l'étude.

Une réunion de mise en place avec l'investigateur principal aura lieu avant le début de l'essai (rappel des BPC, organisation de la recherche, monitoring prévu).

L'investigateur informe le promoteur en temps réel des inclusions réalisées.

Lors des visites de monitoring sur site, les ARC devront pouvoir consulter :

- les cahiers de recueil de données des patients inclus
- les dossiers médicaux et infirmiers des patients.
- le classeur investigateur

Le monitoring vérifiera au minimum les 6 points suivants :

- l'existence des patients, l'information et la présence des consentements éclairés signés
- le respect des critères d'inclusion
- le critère principal de jugement
- la surveillance et la déclaration des EIG
- la survenue de faits nouveaux nécessitant le dépôt d'un amendement
- la gestion et le monitoring des pharmacies.

▪ Clôture de l'étude

A la fin de l'essai, des procédures de clôture seront appliquées, avec classement de tous les documents et des données sources. Une fois l'analyse finale effectuée et validée, l'ensemble du dossier et des données sont scellés et archivés selon des procédures spécifiques dans des locaux sécurisés.

XII) Considérations éthiques et légales

La recherche sera conduite conformément au protocole, aux bonnes pratiques cliniques et aux dispositions législatives et réglementaires en vigueur.

L'investigateur est responsable du déroulement de l'essai.

L'investigateur s'engage :

- à garder des données sources ainsi que les documents administratifs relatifs au protocole,
- à ne pas inclure de volontaire avant la réception des autorisations officielles du CPP et de l'autorité compétente
- à respecter le protocole
- à conduire l'étude suivant les principes moraux, réglementaires, éthiques et scientifiques qui régissent la recherche clinique,
- à recueillir le consentement éclairé et écrit de chaque volontaire,
- à rapporter tout événement indésirable grave.

Les sujets auront une information complète orale et écrite précisant le déroulement de l'essai. Une lettre d'information devra être remise au sujet par l'investigateur ou le médecin qui le représente avant son inclusion dans l'étude.

Un consentement éclairé (en annexe du protocole) signé sera recueilli pour chaque sujet avant leur entrée dans l'étude. Aucun acte spécifique au protocole ne devra commencer sans l'accord signé du patient.

La lettre d'information et le formulaire de consentement seront établis en 3 exemplaires dont un exemplaire sera remis au sujet ; un exemplaire sera conservé par l'investigateur qui transmettra le dernier exemplaire au promoteur, dans une enveloppe sous pli scellée. (Cette enveloppe sera conçue de telle sorte qu'elle ne puisse être refermée et scellée à nouveau après ouverture.)

Le consentement sera signé par l'investigateur ou le médecin qui le représente et le sujet.

Avis favorable du CPP

Le promoteur soumet une demande d'avis auprès du CPP avant le début de la recherche, conformément à l'article L1121-4 du Code de la Santé Publique. Le promoteur adresse une copie et un résumé de la recherche à l'ANSM.

Modifications au protocole

Le promoteur est seul autorisé à modifier le protocole, en concertation avec l'investigateur coordonnateur.

On entend par modifications substantielles, les modifications qui ont un impact significatif sur tout aspect de la recherche, notamment sur la protection des personnes, y compris à l'égard de leur sécurité, sur les conditions de validité de la recherche le cas échéant sur la qualité et la sécurité des produits expérimentés, sur l'interprétation des documents scientifiques qui viennent appuyer le déroulement de la recherche ou sur les modalités de conduite de celle-ci.

Une demande de modification substantielle est adressée par le promoteur au CPP. Dès réception de l'avis favorable, la version amendée du protocole est alors transmise par le promoteur, à l'ANSM pour information et à tous les investigateurs.

Une modification non substantielle du protocole est une modification mineure ou une clarification sans retentissement sur la conduite de l'essai. Ces modifications ne seront pas soumises aux autorités compétentes mais feront l'objet d'un accord entre le promoteur et l'investigateur et seront clairement documentées (dans le dossier de suivi de l'étude).

XIII) Traitement des données et conservation des documents et des données relatives à la recherche

Le traitement des données sera réalisé dans les conditions de confidentialité définies par la délibération no 2016-262 du 21 juillet 2016 portant modification de la méthodologie de référence pour les traitements de données personnelles opérés dans le cadre des recherches impliquant la personne humaine (MR-001).

Les données concernant cette étude seront archivées pendant une durée minimum de quinze ans à compter de la fin de la recherche ou de son arrêt anticipé sans préjudice des dispositions législatives et réglementaires en vigueur.

XIV) Assurance

Le promoteur souscrit un contrat d'assurance garantissant sa responsabilité civile et celle de tout intervenant à l'étude, conformément à l'article L1121-10 du Code de la Santé Publique.

XV) Publication Valorisation

Le rapport final de l'étude sera rédigé par le coordonnateur du projet en collaboration avec le biostatisticien et sera adressée au promoteur dans les meilleurs délais après la fin de la recherche. Les équipes participantes seront désignées dans la publication des résultats selon un ordre de citation dépendant du nombre de patients inclus dans les centres respectifs ou de leur contribution au protocole ou à la réalisation de l'étude.

L'étude se divise en 3 parties pour valorisation :

- Pour la partie clinique les investigateurs sont le Pr I.YAKOUB-AGHA (principal) et le Dr L.MAGRO (Unité d'Allogreffes, Service des Maladies du sang, Hôpital Huriez, CHRU Lille).
- Pour la partie pratique de la PEC, l'investigateur est le Dr A.LIONET (Service de Néphrologie, Hôpital Huriez, CHRU Lille).
- Pour la partie immunologique, les responsables scientifiques sont le Pr M.LABALLETTE et le Dr P.VARLET (Institut d'Immunologie, Centre de Biologie Pathologie, CHRU Lille).

Conformément à l'article R 5121-13 du Code de la Santé Publique, les essais ne peuvent faire l'objet d'aucun commentaire écrit ou oral sans l'accord conjoint de l'investigateur et du promoteur. Toute publication doit mentionner



que le CHRU de Lille est promoteur (No d'identification " 2009_18 " à demander à la Délégation à la Recherche). En tout état de cause, le CHRU de Lille, promoteur de l'étude, a la maîtrise de la première publication. L'investigateur adresse une copie de ses publications au promoteur.

Le promoteur est le propriétaire exclusif des résultats de l'étude. Ces résultats, ainsi que toutes les données relatives à la recherche, ne doivent en aucun cas être transmises à un tiers, sans contrepartie négociée préalablement par la Délégation à la Recherche. Toute sollicitation de ce type doit être transmise le plus tôt possible aux affaires juridiques de la Délégation à la Recherche.

XVI) Bibliographie

1. Abu-Dalle I, Reljic T, Nishihori T, Antar A, Bazarbachi A, Djulbegovic B, et al. Extracorporeal photopheresis in steroid-refractory acute or chronic graft-versus-host disease: results of a systematic review of prospective studies. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2014 Nov;20(11):1677–86.
2. Lee SJ, Wolff D, Kitko C, Koreth J, Inamoto Y, Jagasia M, et al. Measuring therapeutic response in chronic graft-versus-host disease. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: IV. The 2014 Response Criteria Working Group report. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2015 Jun;21(6):984–99.
3. Socié G, Ritz J. Current issues in chronic graft-versus-host disease. *Blood*. 2014 Jul 17;124(3):374–84.
4. Pidala J, Kurland BF, Chai X, Vogelsang G, Weisdorf DJ, Pavletic S, et al. Sensitivity of changes in chronic graft-versus-host disease activity to changes in patient-reported quality of life: results from the Chronic Graft-versus-Host Disease Consortium. *Haematologica*. 2011 Oct;96(10):1528–35.
5. Lee SJ, Vogelsang G, Flowers MED. Chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2003 Apr;9(4):215–33.
6. Flowers MED, Parker PM, Johnston LJ, Matos AVB, Storer B, Bensinger WI, et al. Comparison of chronic graft-versus-host disease after transplantation of peripheral blood stem cells versus bone marrow in allogeneic recipients: long-term follow-up of a randomized trial. *Blood*. 2002 Jul 15;100(2):415–9.
7. Gooley TA, Chien JW, Pergam SA, Hingorani S, Sorrow ML, Boeckh M, et al. Reduced mortality after allogeneic hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med*. 2010 Nov 25;363(22):2091–101.
8. Anasetti C, Logan BR, Lee SJ, Waller EK, Weisdorf DJ, Wingard JR, et al. Peripheral-blood stem cells versus bone marrow from unrelated donors. *N Engl J Med*. 2012 Oct 18;367(16):1487–96.
9. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, Socie G, Wingard JR, Lee SJ, et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2005 Dec;11(12):945–56.
10. Jagasia MH, Greinix HT, Arora M, Williams KM, Wolff D, Cowen EW, et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group report. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2015 Mar;21(3):389–401.e1.
11. Sullivan KM, Witherspoon RP, Storb R, Deeg HJ, Dahlberg S, Sanders JE, et al. Alternating-day cyclosporine and prednisone for treatment of high-risk chronic graft-v-host disease. *Blood*. 1988 Aug;72(2):555–61.
12. Vogelsang GB. How I treat chronic graft-versus-host disease. *Blood*. 2001 Mar 1;97(5):1196–201.
13. Marshall SR. Technology insight: ECP for the treatment of GvHD--can we offer selective immune control without generalized immunosuppression? *Nat Clin Pract Oncol*. 2006 Jun;3(6):302–14.
14. Flowers MED, Apperley JF, van Besien K, Elmaagacli A, Grigg A, Reddy V, et al. A multicenter prospective phase 2 randomized study of extracorporeal photopheresis for treatment of chronic graft-versus-host disease. *Blood*. 2008 Oct 1;112(7):2667–74.

15. Kaloyannidis P, Mallouri D. The role of the extracorporeal photopheresis in the management of the graft-versus-host disease. *Transfus Apher Sci Off J World Apher Assoc Off J Eur Soc Haemapheresis*. 2012 Apr;46(2):211–9.
16. Lüftl M, Röcken M, Plewig G, Degitz K. PUVA inhibits DNA replication, but not gene transcription at nonlethal dosages. *J Invest Dermatol*. 1998 Sep;111(3):399–405.
17. Maeda A. Extracorporeal photochemotherapy. *J Dermatol Sci*. 2009 Jun;54(3):150–6.
18. Xia C-Q, Campbell KA, Clare-Salzler MJ. Extracorporeal photopheresis-induced immune tolerance: a focus on modulation of antigen-presenting cells and induction of regulatory T cells by apoptotic cells. *Curr Opin Organ Transplant*. 2009 Aug;14(4):338–43.
19. Hannani D. Extracorporeal Photopheresis: Tolerogenic or Immunogenic Cell Death? Beyond Current Dogma. *Front Immunol*. 2015;6:349.
20. Zhu L, Couriel DR, Chang C-H. The Effect of Extracorporeal Photopheresis on T Cell Response in Chronic Graft-versus-Host Disease. *Leuk Lymphoma*. 2015 juin;1–31.
21. Im A, Pavletic SZ. Deciphering the Mystery: Extracorporeal Photopheresis in Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2015 Nov;21(11):1861–2.
22. Messina C, Locatelli F, Lanino E, Uderzo C, Zacchello G, Cesaro S, et al. Extracorporeal photochemotherapy for paediatric patients with graft-versus-host disease after haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol*. 2003 Jul;122(1):118–27.
23. Greinix HT, van Besien K, Elmaagacli AH, Hillen U, Grigg A, Knobler R, et al. Progressive improvement in cutaneous and extracutaneous chronic graft-versus-host disease after a 24-week course of extracorporeal photopheresis--results of a crossover randomized study. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2011 Dec;17(12):1775–82.
24. Berger M, Albiani R, Sini B, Fagioli F. Extracorporeal photopheresis for graft-versus-host disease: the role of patient, transplant, and classification criteria and hematologic values on outcome-results from a large single-center study. *Transfusion (Paris)*. 2014 Oct 29;
25. Gorgun G, Miller KB, Foss FM. Immunologic mechanisms of extracorporeal photochemotherapy in chronic graft-versus-host disease. *Blood*. 2002 Aug 1;100(3):941–7.
26. Gatz E, Rogers CE, Clouthier SG, Lowler KP, Tawara I, Liu C, et al. Extracorporeal photopheresis reverses experimental graft-versus-host disease through regulatory T cells. *Blood*. 2008 Aug 15;112(4):1515–21.
27. Brüggemann M-C, Klein I, Greinix H, Bauer W, Kuzmina Z, Rabitsch W, et al. Diverse T-cell responses characterize the different manifestations of cutaneous graft-versus-host disease. *Blood*. 2014 Jan 9;123(2):290–9.
28. Denney HA, Whittle RJ, Lai J, Jacques RM, Taylor PC. Regulatory T Cells in Chronic Graft-Versus-Host Disease After Extracorporeal Photopheresis: Correlation With Skin and Global Organ Responses, and Ability to Taper Steroids. *Transplantation*. 2017 Jan;101(1):204–11.
29. Alfred A, Taylor PC, Dignan F, El-Ghariani K, Griffin J, Gennery AR, et al. The role of extracorporeal photopheresis in the management of cutaneous T-cell lymphoma, graft-versus-host disease and organ transplant rejection: a consensus statement update from the UK Photopheresis Society. *Br J Haematol [Internet]*. 2017 Feb [cited 2017 Mar 9]; Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/bjh.14537>

XVII) Annexes

ANNEXE 1 : Populations immunocompétentes explorées dans l'étude

ANNEXE 2 : Pratique d'harmonisation dans les allogreffes de cellules souches hématopoïétiques

ANNEXE 3 : Questionnaire de Qualité de vie : QLQ-C30

ANNEXE 4 : Evaluation de l'activité GVH chronique.

ANNEXE 5 : Echelle de symptômes de GVH chronique de Lee.

ANNEXE 6 : Calendrier des évaluations et prélèvements

ANNEXE 7 : Bon d'envoi pour acheminement des prélèvements à Lille (<24h après prélèvement)

ANNEXE 8 : Bon d'envoi pour acheminement des prélèvements pour étude ancillaire Lilloise (<12h après prélèvement)

ANNEXE 9 : Lettre d'information et formulaire de consentement.

ANNEXE 10 : Atelier de la SFGM-TC

ANNEXE 11 : Protocole d'utilisation de la technique de PEC au lit du patient

ANNEXE 12: Tableau d'adaptation des posologies d'immunosuppresseurs

ANNEXE 1: Populations immunocompétentes explorées dans l'étude

| Populations étudiées | Panels de marqueurs | Sous populations identifiées |
|--|---|---|
| Lymphocytes T/B/NK | CD45 KrO, CD3 Fitc, CD4 PB, CD8 APc, CD19 P5.5, CD56 PE | LT CD4+: CD3+ CD4+ LT CD8+: CD3+ CD8+ LB: CD19+ NK: CD3- CD56+ |
| Sous populations lymphocytes T | CD3 KrO*, CD4 PB, CD8 APc, CD45RA Fitc, CCR7 PE, HLA DR PC7‡ | LT naïf: CD45RA+ CCR7+ LT mémoire centrale: CD45RA- CCR7+ TL effecteur: CD45RA+ CCR7- LT effecteur mémoire: CD45RA- CCR7- |
| Polarisation lymphocytes T | CD3 KrO*, CD4 PB, CCR5 PE‡, CXCR3 PeVio770‡, CCR4 APC‡, CCR6 BB515‡ | LT Th1: CCR5+ CXCR3+ LT Th2: CCR4+ LT Th17: CCR6+ |
| Lymphocytes T follicular helper | CD4 PB, CXCR5 BV510‡, PD-1 PC7*, ICOS APC*, CD25 VioBright Fitc‡, CD127 PE‡ | LTfh: CXCR5+ PD1+ ICOS+ LTfhreg: CD127- CD25+ |
| Lymphocytes T régulateurs | CD3 KrO*, CD4 PB, CD25 VioBright Fitc‡, GARP PE‡, FOXP3 AF647 | LTreg: CD3+ CD4+ CD25+/high GARP+ FOXP3+ |
| Lymphocytes B mémoires et naïfs | CD45 KrO, CD19 PC7, IgM Fitc, IgD PE, CD27 APC | LB mémoire switchés: CD19+ CD27+ IgM- IgD- LB naïf: CD19+ CD27- |
| Lymphocytes B transitionnels | CD45 KrO, CD19 PC7, IgM Fitc, CD21 PE, CD24 APC A750, CD38 EcD | LB transitionnel: CD19+ CD24+/high CD38+/high IgM+, immature: CD27- CD21-, moins immature CD27- CD21+ |
| Cellules dendritiques | DURACLONE IM*: CD45 KrO, HLA-DR PB, CD16 Fitc, Lineage PE, CD1c PC5.5, CD11c PC7, Clec9A APC, CD123 APC AF700 | CD plasmacytoïde: lin- HLA-DRhigh CD11c- CD myéloïde mDC1: lin- HLA-DRhigh CD11c+ CD1c+ CD myéloïde mDC2: lin- HLA-DRhigh CD11c+ Clec9A+ CD myéloïde CD16+: lin- HLA-DRhigh CD11c+ CD16+ |
| Monocytes et cellules myéloïdes suppressives | CD14 PC5.5*, CD16 PB*, CD64 Fitc‡, CD33 Viogreen‡, CD66b APC Vio770‡, HLADR PC7‡, IL4R‡ PE‡, CXCR4 APC‡ | Monocytes: CD14+ CD16+/- CD64+ MDCS: CD14+ CD33+ CD66b+ CXCR4+ IL4R‡+ HLA-DR- |
| | Lineage = CD3 / CD19 / CD20 / CD14 / CD56 | |
| | * Beckman coulter, ‡ Miltenyi Biotec, ‡ BD Bioscience | |

ANNEXE 2: Pratique d'harmonisation dans les allogreffes de cellules souches hématopoïétiques.

Présentation disponible sur le site : <http://dahpa2011.sfgm-tc.com>

Présentation de la prise en charge de la réaction chronique du greffon contre l'hôte (GVHc).

- Diagnostic et grades.
- Evaluation de la réponse.

La réponse clinique est définie conformément aux critères proposés par le consensus de NIH 2014(2).

- **La réponse complète (RC)** est définie comme la résolution de toutes les manifestations de GVHc cutanée (en termes de sclérose, éruption érythémateuse ou ulcères) et la résolution de toutes les manifestations liées à la GVHc dans les organes spécifiques atteints, sauf certaines modifications irréversibles.

- **La réponse partielle (RP)** est une amélioration du score de base qui reflète un bénéfice clinique supérieur à la mesure d'erreur de l'outil d'évaluation : ex amélioration d'un point ou plus pour une échelle de 4 à 7 points, 2 points pour une échelle de 10 à 12....

Elle est établie, en fonction de la réponse évaluée dans les principaux organes atteints :

-Pour l'atteinte cutanée généralisée :

* toute amélioration du score de réponse cutanée établi par le NIH dans l'échelle 0 à 3

-Pour l'appareil respiratoire :

* amélioration de 10% ou plus pour un VEMS de base de moins de 70%

-Pour l'atteinte Gastro Intestinale :

* amélioration de 50% ou plus des transaminases, PAL ou Bilirubine totale

- **La non réponse (NR)** est définie comme l'absence de modification des manifestations de la GVHc ou toute situation ne répondant pas aux critères mentionnés plus haut pour la RP les patients qui décèdent précocement en raison de la GVHc avant le moment choisi pour l'évaluation de la réponse, ainsi que ceux nécessitant une augmentation de la dose de corticoïdes seront considérés comme présentant une NR.

- **La progression de la maladie (PM)** est définie comme toute aggravation d'un point ou plus pour l'échelle de 0 à 3 pour l'atteinte oculaire, cutanée, gastro-intestinale et œsophagique, sauf de 0 à 1. Pour une GVH articulaire toute aggravation d'un point ou plus est considérée comme une progression. Pour une GVH buccale toute aggravation de 2 points ou plus est considérée comme une progression. Pour une GVH hépatique une augmentation de 2 fois au plus de la limite maximale pour les transaminases, PAL ou bilirubine totale.

Pour une GVH pulmonaire une diminution de 10 % ou plus du VEMS est considérée comme une progression si le VEMS final est <65%. Si le bilan fonctionnel n'est pas disponible l'aggravation du score clinique d'un point ou plus est considéré comme une progression (sauf de 0 à 1 considéré comme trivial).

- **Une réponse mixte (RMX)** est définie par une RC ou une RP au moins au niveau d'un organe accompagnée par la progression dans un autre organe. Cette catégorie doit être considérée comme une progression pour l'analyse. Elle peut identifier une réponse spécifique d'organe.

Les réponses NR, PM et RMX seront considérées comme des échecs de traitement.

ANNEXE 3 : Questionnaire de Qualité de vie : QLQ-C30

ETUDE DE LA QUALITE DE VIE

Dynamique des populations immunocompétentes chez des patients traités par photophérèse extracorporelle lors de la maladie chronique du greffon contre l'hôte

L'étude « qualité de vie » a pour but de :

- Evaluer l'impact du traitement sur la qualité de vie globale des patients, définir les dimensions les plus affectées et déterminer si les patients retrouvent une qualité de vie équivalente ou supérieure à celle qu'ils avaient au moment de leur inclusion dans le protocole et si oui, à quel moment.
- Rechercher les facteurs pouvant expliquer les différences de qualité de vie entre les patients.

Mesure de la qualité de vie

La qualité de vie des patients, dans son aspect multidimensionnel, sera mesurée dès l'inclusion du patient dans le protocole jusqu'à un an après son inclusion. La qualité de vie globale sera évaluée à l'aide du core questionnaire de l'EORTC, le QLQ-C30 qui est un questionnaire spécifique du cancer et validé en Français. Le QLQ-C30, composé de 30 items, permet de calculer 5 scores d'aptitude fonctionnelle (capacité physique, aptitude à travailler ou à accomplir toute tâche ménagère, capacité cognitive, état émotionnel, état social), un score de qualité de vie globale, un score de problèmes financiers liés au traitement et 8 scores de symptôme (fatigue, nausée/vomissement, douleur, dyspnée, perturbation du sommeil, perte d'appétit, constipation, diarrhée).

ADMINISTRATION ET CONTENU DES AUTOQUESTIONNAIRES

Qualité de vie des patients

Les auto-questionnaires seront proposés à chaque patient du début du traitement (inclusion) jusqu'à l'arrêt du protocole.

GESTION DES AUTOQUESTIONNAIRES

Les auto-questionnaires seront envoyés dans les centres dès la mise en place.

Les questionnaires remplis par les patients devront être retournés sous pli scellé à la DRC du CHU de Lille où toutes les données de l'essai seront centralisées.

ANALYSE DES DONNEES

L'analyse des données « qualité de vie » sera effectuée par l'investigateur principal. Ce dernier peut, le cas échéant, demander l'avis de l'équipe de psycho-oncologie du CHU de Lille.

BIBLIOGRAPHIE

1. Veldhuyzen Van Zanten SJO. (1991). Quality of life as outcome measures in randomized clinical trials. An overview of three general medical journals. *Controlled Clinical Trials*, 12, 234S-242S
2. Moatti J P: Intérêt et limites du calcul économique appliqué à l'évaluation des stratégies médicales : exemples en onco-hématologie *Thérapie*, 2001, 56, 135-138.
3. Faucher C, Fortanier C, Viens P, Le Corroller A G, Chabannon C, Camerlo J, Novakovitch G, Gastaut J A, Maraninchi D, Moatti J P, Blaise D: Clinical and economic comparison of lenograstim-primed blood cells (BC) and bon (BM) allogeneic transplantation *Bone Marrow Transplantation*, 1998, 21, 3: S92-S98.
4. Munzenberger N, Fortanier C, Faucher C, Macquart-Moulin G, Novakovitch G, Maraninchi D, Moatti J P, Blaise D: Psychological aspects of hematopoietic stem cell donation for allogeneic transplantation: how family donors cope with this experience. *Psycho-Oncology*, 1999, 8: 55-62.
5. Blaise D, Kuentz M, Fortanier C, Bourhis J H, Milpied N, Sutton L, Jouet J P, Attal M, Bordigoni P, Cahn J Y, Boiron J M, Schuller M P, Moatti J P, Michallet M: Randomized trial of Bone Marrow versus Lenograstim-primed blood cell allogeneic transplantation: a report from the Société Française de Greffe de Moelle. *Journal of Clinical Oncology*, 2000, 18, 3: 537-546.
6. Fortanier C, Kuentz M, Sutton L, Milpied N, Michalet M, Macquart-Moulin G, Faucher C, Le Corroller A G, Moatti J.P, Blaise D : Healthy sibling donors' anxiety and pain during bone marrow or peripheral blood stem cells harvesting for allogeneic transplantation: results of a randomised study.
7. Aaronson N.K., Ahmedzai S., Bergman B., Bullinger M. & Cull A. (1993). The European organization for research and treatment of cancer QLQ-C30 : A quality of life instrument for use international in clinical trials in oncology. *Journal of the National Cancer Institute*, 85(5), 365-376.

8. Hjermsstad M., Fossa SD., Bjordal K. & Kaasa S. (1995). Test/retest study of the european organization for research and treatment of cancer core quality of life questionnaire. *Journal of Clinical Oncology*, 13, 1249-1254.
9. King MT. (1996). The interpretation of scores from the EORTC quality of life questionnaire QLQ-C30. *Quality of Life Research*, 5, 555-567.

QUESTIONNAIRE SUR LA QUALITE DE VIE EORTC QLQ6C30, Version 3

Initiales du patient : |_| - |_| Centre : |_|_| N° INCLUSION : |_|_|

Nous nous intéressons à vous et à votre santé. Répondez vous-même à toutes les questions en entourant le chiffre qui correspond le mieux à votre situation. Il n'y a pas de « bonne » ou de « mauvaise » réponse. Ces informations sont strictement confidentielles.

| Au cours de la semaine passée | Pas du tout | Un peu | Assez | Beaucoup |
|---|------------------------|---------------|--------------|-----------------|
| 1. Avez-vous des difficultés à faire certains efforts physiques pénibles comme porter un sac à provision chargé ou une valise ? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. Avez-vous des difficultés à faire une LONGUE promenade ? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. Avez-vous des difficultés à faire un PETIT tour dehors ? | | | | |
| 4. Etes-vous obligée de rester au lit ou dans un fauteuil la majeure partie de la journée ? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. Avez-vous besoin d'aide pour manger, vous habiller, faire votre toilette ou aller aux W.C. ? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 6. Etes-vous limitée d'une manière ou d'une autre pour accomplir, soit votre travail, soit vos tâches habituelles chez vous ? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 7. Etes-vous totalement incapable de travailler ou d'accomplir des tâches habituelles chez vous ? | 1 | 2 | 3 | 4 |

| Au cours de la semaine passée | Pas du tout | Un peu | Assez | Beaucoup |
|--|------------------------|---------------|--------------|-----------------|
| 8. Avez-vous le souffle court ? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 9. Avez-vous eu mal ? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 10. Avez-vous eu besoin de repos ? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 11. Avez-vous eu des difficultés pour dormir ? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 12. Vous êtes-vous sentie faible ? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 13. Avez-vous manqué d'appétit ? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 14. Avez-vous eu des nausées (mal au cœur) ? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 15. Avez-vous vomi ? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 16. Avez-vous été constipée ? | 1 | 2 | 3 | 4 |

ANNEXE 4 : Evaluation de l'activité GVH chronique.

Score GVHc, critères NIH 2014

NOM : _____ PRENOM : _____

DDN : / / .

EXAMINATEUR : _____

Date de l'Examen : / / .

| | Score 0 | Score 1 | Score 2 | Score 3 |
|---|---|--|---|--|
| KPS/ECOG : <input type="text" value="Score :"/> | Asymptomatique. Activité normale (ECOG 0/ KPS 100%) | Symptomatique lors d'effort (ECOG 1/KPS 80-90%) | Symptomatique Alitement<50% (ECOG 2/KPS 60-70%) | Symptomatique Non ambulatoire. Alitement>50% (ECOG 3-4 KPS<60%) |

Cutanée/ surface corporelle (SC)

| | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Pas de lésion | 1-18% de SC | 19-50% de SC | > 50% de SC |

Lésions cutanées à prendre en compte

- Erythème/rash maculopapuleux
- Lichen plan
- Sclérose
- Lésion papulosquameuse ou ichtyosique
- Kératose pilaire

| | | | |
|---|--|---|---|
| Sclérose cutanée <input type="text" value="Score :"/> | <input type="checkbox"/> Pas de sclérose | <input type="checkbox"/> Sclérose superficielle | <input type="checkbox"/> Sclérose profonde <input type="checkbox"/> Rigide <input type="checkbox"/> Limitation articulaire <input type="checkbox"/> Ulcération |
|---|--|---|---|

Autres lésions cutanées (non prise en compte par le score cutané SC)

- Hyperpigmentation
- Hypopigmentation
- Poikilidermie
- Prurit généralisé ou sévère
- Alopécie
- Lésion unguéale
- Autre lésion cutanée non liée à la GVH (spécifier) : _____

| | Score 0 | Score 1 | Score 2 | Score 3 |
|--|---|--|---|---|
| <p>Endobuccale</p> <div style="border: 1px solid black; width: 100px; height: 30px; margin-bottom: 10px; display: flex; align-items: center; justify-content: center;">Score :</div> <p>Présence d'un Lichen plan</p> <p><input type="checkbox"/> OUI</p> <p><input type="checkbox"/> NON</p> <p><input type="checkbox"/> Autre lésion cutanée non liée à la GVH (spécifier) : _____</p> | <p><input type="checkbox"/> Pas de lésion</p> | <p><input type="checkbox"/> Atteinte légère sans retentissement sur l'alimentation</p> | <p><input type="checkbox"/> Atteinte modérée avec limitation partielle de l'alimentation</p> | <p><input type="checkbox"/> Atteinte sévère avec retentissement majeur sur l'alimentation</p> |
| <p>Oculaire</p> <div style="border: 1px solid black; width: 100px; height: 30px; margin-bottom: 10px; display: flex; align-items: center; justify-content: center;">Score :</div> <p>Kératoconjonctivite sèche (KCS) objectivée par l'ophtalmo :</p> <p><input type="checkbox"/> OUI</p> <p><input type="checkbox"/> NON</p> <p><input type="checkbox"/> Non Réalisé</p> <p><input type="checkbox"/> Autre lésion ophtalmo non liée à la GVH (spécifier) : _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> | <p><input type="checkbox"/> Pas de symptôme</p> | <p><input type="checkbox"/> Sécheresse oculaire légère sans retentissement sur les activités quotidiennes (larmes artificielle ≤ 3/j)</p> | <p><input type="checkbox"/> Sécheresse oculaire modérée avec retentissement partiel sur les activités quotidiennes (larmes artificielle > 3/j ou bouchons lacrymaux) sans baisse de l'acuité visuelle liée à une KCS</p> | <p><input type="checkbox"/> Sécheresse oculaire sévère avec retentissement majeur sur les activités quotidiennes ou baisse de l'acuité visuelle liée à une KCS.</p> |

| | Score 0 | Score 1 | Score 2 | Score 3 |
|--|---|--|---|---|
| <p>Atteinte musculo-Squelettique</p> <p>Score d'amplitude articulaire Photographique (voir Annexe A) Epaule (1-7) : Coude (1-7) : Poignet (1-7) : Cheville (1-4) :</p> <p><input type="checkbox"/> Autre atteinte non liée à la GVH (spécifier) : _____</p> | <p><input type="checkbox"/> Pas de symptôme</p> | <p><input type="checkbox"/> Tension musculaire modérée des bras ou des jambes, amplitude articulaire normale ou légèrement diminuée</p> <p>sans retentissement sur les activités quotidiennes</p> | <p><input type="checkbox"/> Tension musculaire des bras ou des jambes ou contracture articulaire, fasciite, diminution modérée des amplitudes articulaires</p> <p>avec retentissement modéré sur les activités quotidiennes</p> | <p><input type="checkbox"/> Contracture avec limitation significative des amplitudes articulaires et limitation des activités quotidiennes (habillage...)</p> |
| <p>Atteinte génitale (voir Annexe B)</p> <p><input type="checkbox"/> Non examinée</p> <p>Activité sexuelle</p> <p><input type="checkbox"/> OUI</p> <p><input type="checkbox"/> NON</p> <p><input type="checkbox"/> Autre atteinte non liée à la GVH (spécifier) : _____</p> | <p><input type="checkbox"/> Pas de symptôme</p> | <p><input type="checkbox"/> Signe léger</p> | <p><input type="checkbox"/> Signe modéré, examen gynécologique inconfortable</p> | <p><input type="checkbox"/> Signes sévères</p> |
| <p>Appréciation globale de la sévérité de la GVH (opinion de l'examinateur)</p> | <p><input type="checkbox"/> Pas de GVH</p> | <p><input type="checkbox"/> Légère</p> | <p><input type="checkbox"/> Modérée</p> | <p><input type="checkbox"/> Sévère</p> |

Autres manifestations reliées à une GVH chronique, évaluation en fonction de l'impact fonctionnel (Pas de symptôme 0, légère 1, modérée 2, sévère 3)

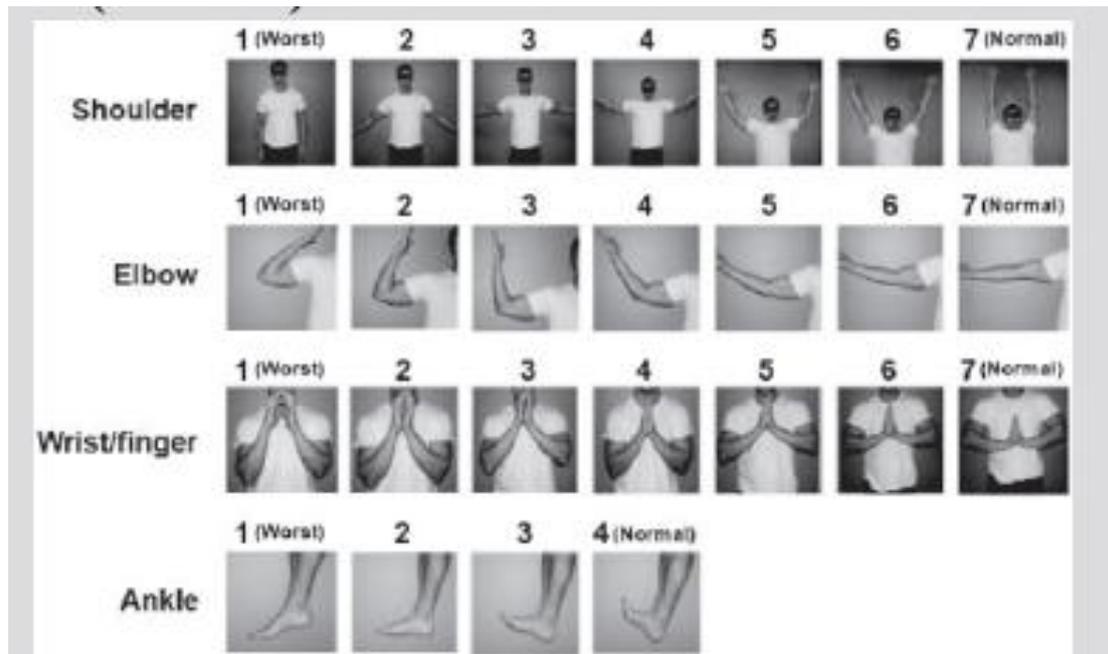
- | | | |
|---|---|---|
| <input type="checkbox"/> Ascite : _____ | <input type="checkbox"/> Sd Myasthénique : _____ | |
| <input type="checkbox"/> épanchement péricardique : _____ | <input type="checkbox"/> Neuropathie périphérique : _____ | <input type="checkbox"/> Eosinophilie >500/mm ³ : _____ |
| <input type="checkbox"/> épanchement pleural : _____ | <input type="checkbox"/> Polymyosite : _____ | <input type="checkbox"/> Plaquettes < 100 000/mm ³ : _____ |
| <input type="checkbox"/> Sd néphrotique : _____ | <input type="checkbox"/> Perte de poids >5% sans atteinte digestive : _____ | <input type="checkbox"/> Autre (spécifier) : _____ |

Sévérité de la GVHc :

Table 2
NIH Global Severity of chronic GVHD

| |
|---|
| Mild chronic GVHD |
| 1 or 2 Organs involved with no more than score 1 <i>plus</i> |
| Lung score 0 |
| Moderate chronic GVHD |
| 3 or More organs involved with no more than score 1 |
| OR |
| At least 1 organ (not lung) with a score of 2 |
| OR |
| Lung score 1 |
| Severe chronic GVHD |
| At least 1 organ with a score of 3 |
| OR |
| Lung score of 2 or 3 |
| Key points: |
| In skin: higher of the 2 scores to be used for calculating global severity. |
| In lung: FEV1 is used instead of clinical score for calculating global severity. |
| If the entire abnormality in an organ is noted to be unequivocally explained by a non-GVHD documented cause, that organ is not included for calculation of the global severity. |
| If the abnormality in an organ is attributed to multifactorial causes (GVHD plus other causes) the scored organ will be used for calculation of the global severity regardless of the contributing causes (no downgrading of organ severity score). |

Annexe A : évaluation de l'amplitude articulaire



Annexe B : Evaluation de l'appareil génital.

| | SCORE 1 | SCORE 2 | SCORE 3 | SCORE 4 |
|---|---------------------------------------|--------------------------------------|---|---|
| Appareil génital <input type="checkbox"/> Homme <input type="checkbox"/> Femme Activité sexuelle <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> non | <input type="checkbox"/> Pas de signe | <input type="checkbox"/> Signe léger | <input type="checkbox"/> Signe modéré, examen gynécologique inconfortable | <input type="checkbox"/> Signes sévères |
| Lésions génitales à prendre en compte : <input type="checkbox"/> Lichen plan <input type="checkbox"/> Lichen scléreux <input type="checkbox"/> Rétrécissement vaginal <input type="checkbox"/> Atrophie clitoridienne ou labiale <input type="checkbox"/> Erosion <input type="checkbox"/> Fissure <input type="checkbox"/> Ulcère <input type="checkbox"/> Phimosis <input type="checkbox"/> Sténose/rétrécissement urétral | | | | |
| <input type="checkbox"/> Anomalies présentes mais NON reliées à l'évolution d'une GVH (spécifier la cause) _____ - <input type="checkbox"/> Anomalies liées à l'évolution d'une GVH avec cause intercurrente (spécifier) : _____ _____ | | | | |

Score de sévérité de l'appareil génital féminin :

1. Léger : érythème vulvaire, lichen plan, vulvaire ou lichen scléreux vulvaire
2. Modéré : érosion inflammatoire de la muqueuse vulvaire, fissures
3. Sévère : fusion labiale, atrophie clitoridienne, adhésion fibreuse vaginale, bande fibreuse circonférentielle vaginale, synéchie, lésion scléreuse, sténose vaginale

Score de sévérité de l'appareil génital masculin :

1. Légère : lichen plan
2. Modéré : érythème, lichen scléreux
3. Sévère : phimosis, sténose urétrale

ANNEXE 5 : Echelle de symptômes de GVH chronique de Lee.

ÉCHELLE DES SYMPTÔMES DE GVH CHRONIQUE DE LEE

Veillez entourer un seul chiffre par ligne pour indiquer quels des problèmes suivants vous ont ennuyé(e) au cours du **dernier mois**. Chaque chiffre correspond à une intensité du symptôme :

0=Pas du tout 1= Légèrement 2=Modérément 3=De façon marquée 4=Extrêmement

PEAU :

| | | | | | |
|--------------------------------|---|---|---|---|---|
| 1. Couleur anormale de la peau | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. Éruptions cutanées | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. Épaississement de la peau | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4 Plaies cutanées | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. Démangeaisons cutanées | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

YEUX ET BOUCHE:

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 6. Yeux secs | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 7. Nécessité d'utiliser fréquemment des gouttes oculaires | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 8. Difficultés à voir clairement | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 9. Nécessité d'éviter certains aliments en raison de la douleur buccale | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 10. Ulcérations de la bouche | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 11. Alimentation par voie intraveineuse ou sonde gastrique | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

RESPIRATION :

| | | | | | |
|-------------------------------------|---|---|---|---|---|
| 12. Toux fréquente | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 13. Expectorations colorées | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 14. Essoufflement à l'effort | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 15. Essoufflement au repos | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 16. Nécessité d'une oxygénothérapie | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

0=Pas du tout 1= Légèrement 2=Modérément 3=De façon marquée 4=Extrêmement

ALIMENTATION ET DIGESTION :

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 17. Difficultés à avaler les aliments solides | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 18. Difficultés à avaler les liquides | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 19. Vomissements | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 20. Perte de poids | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

MUSCLES ET ARTICULATIONS :

| | | | | | |
|--|---|---|---|---|---|
| 21. Douleurs articulaires et musculaires | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 22. Limitation des mouvements articulaires | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 23. Crampes musculaires | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 24. Faiblesse musculaire | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

ÉNERGIE :

| | | | | | |
|--|---|---|---|---|---|
| 25. Perte d'énergie | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 26. Besoin de dormir plus/de faire des siestes | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 27. Fièvres | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

MENTAL ET ÉMOTIONNEL :

| | | | | | |
|-------------------------|---|---|---|---|---|
| 28. Dépression | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 29. Anxiété ... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 30. Troubles du sommeil | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

ANNEXE 6 : Calendrier des évaluations et des prélèvements à réaliser

| Planning des visites (+/- 3 jours) | Flow-Chart Protocole Immuno-PEC | | | | | | | | | | | | | | |
|--|---------------------------------|-------------------|----|----|--------|----|-----|-------------------|-----|-----|-----|-----|-------------------------------------|-----------------------|------------------------------|
| | Screening | Phase d'induction | | | | | | Phase d'entretien | | | | | | Suivi Post traitement | Sortie de l'étude prématurée |
| | | S0 | S2 | S4 | S6 | S8 | S10 | S12 | S14 | S16 | S18 | S20 | S22/ Fin de traitement protocolaire | S40/Fin d'étude | |
| Information du patient sur le protocole | X | | | | | | | | | | | | | | |
| Consentement signé | X | | | | | | | | | | | | | | |
| Critères d'inclusion/non-inclusion | X | X | | | | | | | | | | | | | |
| Evaluation de la GVHc | X | X | X | | X | | X | | | X | | | X | X | X |
| Examen clinique (signes vitaux, poids) | X | X | X | | X | | X | | | X | | | X | X | X |
| Prélèvement pour analyse immunologique ² Sang circulant ³ Biopsie cutanée ⁴ | | X X | X | | X X | | X | | | X | | | X X | X | X X |
| Test de grossesse ⁵ | X | | | | | | | | | | | | | | |
| Questionnaire de la qualité de vie | X | | X | | X | | X | | | X | | | X | X | X |
| Evénements indésirables | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |

1 Les évènements indésirables sont à reporter pendant une durée de 15 jours après la fin de l'étude ou la sortie prématurée

2 A réaliser du lundi au jeudi hors jours fériés

3 Tubes à prélever : 2 tubes EDTA, 2 tubes héparine, 2 tubes secs (détail des tubes pour envoi en Immunologie à Lille pour reception sous 24 heures : 2 tubes EDTA , 1 tube Héparine, tubes pour collection à envoyer au CRB/CIC1403 du centre pour centrifugation sous 2 heures : 2 tubes Sec, 1 tube EDTA)

4 Biopsie cutanée optionnelle à faire uniquement chez les patients ayant des atteintes cutanées à S0 et ayant consentis à ce prélèvement

5 Exploration dans le cadre du soin courant

NB : Une NFS est à réaliser dans les 24 heures avant chaque séance de PEC

ANNEXE 7 : Bon d'envoi pour acheminement des prélèvements à Lille (<24h après prélèvement)

**Centre de Biologie
Pathologie CHRU Lille
Bd du Pr Jules Leclercq
59037 Lille cedex**

**DEMANDE D'EXAMEN POUR LE LABORATOIRE
D'IMMUNOLOGIE CELLULAIRE
Pr Myriam Labalette
2^{ème} ETAGE
Tel : 0320446576**

N° inclusion

Date/heure de prélèvement : ___/___/___ à ___h___

Centre d'envoi

/___/ -/___/
N° centre-Patient

1 tube EDTA de 6ml

2 tubes HEPARINES de 6 ml

PROCOLE « IMMUNO-PEC »

Prélèvement patient

S0 **S2** **S6** **S10** **S16** **S22**

Examen demandé : Immunophénotypage lymphocytaire
Réception au laboratoire : ___/___/___ à ___h___ de

2 Tubes Héparines

1 Tube EDTA

ANNEXE 8 : Bon d'envoi pour acheminement des prélèvements pour étude ancillaire Lilloise (<12h après prélèvement)

**Centre de Biologie
Pathologie CHRU Lille
Bd du Pr Jules Leclercq
59037 Lille cedex**

**DEMANDE D'EXAMEN POUR LE LABORATOIRE
D'IMMUNOLOGIE CELLULAIRE
Pr Myriam Labalette
2^{ème} ETAGE
Tel : 0320446576**

N° inclusion

Date/heure de prélèvement : ___/___/___ à ___h___

Service Néphrologie
Dr A Lionet

/___/___/___ /
N° centre-Patient

2 tubes EDTA (sur poche)+ 6 tubes Héparines 6mL (sang circulant)

Détail des tubes EDTA : 1 tube de 1mL isolé de la poche avant traitement par 8-MOP et photoactivation
1 tube de 1 mL isolé de la poche après traitement par 8-MOP et photoactivation

PROTOCOLE « IMMUNO-PEC » Etude ancillaire

Prélèvement patient (entourez l'étape correspondante)

P1 **P12** **P25**

Examen demandé : Immunophénotypage lymphocytaire et approche fonctionnelle

Réception au laboratoire : ___/___/___ à ___h___ de 6 Tubes Héparines avant traitement

1 Tube EDTA avant traitement (sur poche)

1 Tube EDTA après traitement (sur poche)

ANNEXE 9 : Lettre d'information et formulaire de consentement pour les patients des centres extérieurs et les patients inclus à Lille.

1) Centres extérieurs

Note d'information pour les participants à une recherche impliquant la personne humaine intitulée :

Dynamique des populations immunocompétentes chez des patients traités par photophérèse extracorporelle lors de la maladie chronique du greffon contre l'hôte

Promoteur : CHRU de Lille

Investigateur coordonnateur : Professeur Ibrahim YAKOUB-AGHA

Madame, Monsieur,

Le présent document décrit l'étude à laquelle il vous est proposé de participer. Il résume les informations actuellement disponibles en répondant aux différentes questions que vous pouvez vous poser dans le cadre de votre participation à cette recherche.

1) Pourquoi me propose-t-on de participer à cette étude ?

Vous avez eu une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques en tant que traitement pour votre hémopathie. Suite à cela, vous avez développé une maladie chronique du greffon contre l'hôte (GVH chronique) qui est une complication liée aux différences génétiques entre le donneur et le receveur. Les lymphocytes du donneur (cellules immunitaires) vont attaquer les tissus du receveur après greffe et provoquer les symptômes de la GVH chronique (qui surviennent à distance de la greffe). Afin de traiter votre GVH, nous allons associer un traitement médicamenteux (ciclosporine + corticoïdes) à la photophérèse extracorporelle (PEC). Ces traitements ont pour but d'éliminer les cellules détruisant les tissus.

2) Quel est l'objectif de la recherche ?

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence le mécanisme immunologique du traitement par photophérèse extracorporelle qui est encore peu connu bien que son efficacité sur la maladie de GVHc est démontrée. Ce traitement repose sur un effet immunologique qualifié d'immunomodulateur (qui agit sur les réactions du système immunitaire du corps). Plusieurs hypothèses sont avancées par les scientifiques. Dans cette étude française multicentrique, nous allons entreprendre un suivi immunologique avant et pendant votre traitement afin d'identifier les mécanismes d'action de la photophérèse extracorporelle.

3) Comment va se dérouler la recherche ?

Dès la suspicion d'une GVHc vous aurez une première visite qui consistera à évaluer votre éligibilité à la recherche (si vous répondez aux critères d'inclusion et de non-inclusion définis par le protocole) et à vous expliquer en détail le déroulement de chacune des visites.

L'étude vous sera expliquée de façon éclairée. Si vous avez donné votre accord, le traitement par ciclosporine + prednisone sera initié dans les 7 jours qui suivent cette consultation, puis la première séance de PEC sera réalisée dans les 3 jours suivants.

Dans le cadre de cette prise en charge thérapeutique, vous serez vu en consultation d'évaluation de la GVHc à 2 semaines, 6 semaines, 10 semaines, 16 semaines, 22 semaines et 40 semaines. L'évaluation clinique sera faite par le clinicien hématologue, un questionnaire de qualité de vie sera réalisé ainsi que des prises de sang de 6 tubes/visite (42 ml) afin d'effectuer des analyses immunologiques.

Une biopsie cutanée de 6mm sera faite à l'inclusion de façon optionnelle en cas d'atteinte cutanée avérée. Elle sera réalisée uniquement avec votre accord à la première visite, à la semaine 6 et à la semaine 22. Cette analyse est importante pour évaluer l'effet de la GVHc sur la peau (la maladie étant essentiellement tissulaire).

Le rythme des consultations avec le clinicien hématologue reste à son appréciation en dehors des consultations d'évaluation de GVHc prévues par le protocole.

En cas de progression de votre GVH chronique à n'importe quel moment ou en cas de stabilité de la GVH à 10 semaines du traitement ou à l'apparition d'une intolérance à la photophrèse, il vous sera proposé d'arrêter cette étude pour une autre ligne de traitement. Un prélèvement pour suivi immunologique, une biopsie cutanée optionnelle et une évaluation de la réponse sera réalisée à ce moment-là.

En l'absence de progression de votre maladie, votre participation à l'étude prendra fin une fois la visite de suivi à la semaine 40 réalisée.

4) Que se passera-t-il à la fin de ma participation à cette recherche ?

Les éléments biologiques seront conservés au Centre de Ressources Biologiques du CHRU de Lille jusqu'à analyse. S'il reste des échantillons sanguins après la réalisation des analyses prévues dans l'étude, nous vous proposons d'intégrer ces éléments dans une collection déjà existante au CHRU de Lille. Ces échantillons pourront alors être réutilisés pour d'autres tests biologiques, soit en lien avec la présente étude, soit des recherches sur l'immunité de l'allogreffe. Toutefois, vous pouvez exprimer votre opposition à cette utilisation ultérieure de vos prélèvements, maintenant ou à tout moment, en adressant une copie du formulaire de consentement, après y avoir coché la case concernée, au Pr Yakoub-Agha (CHRU de LILLE – Hôpital Huriez - Services des Maladies du sang – Rue M. Polonovski 59037 LILLE Cedex)

5) Quels sont les bénéfices attendus ?

Il n'y a pas de bénéfice direct pour votre participation à cette recherche.

Cependant, l'étude Immuno PEC permettra d'accroître les connaissances sur le traitement par PEC dans le cadre de la GVHc pour améliorer à terme la prise en charge des personnes atteintes comme vous d'une GVHc.

6) La recherche comporte-t-elle des risques, des effets indésirables et/ou des contraintes particulières ?

Par rapport à la prise en charge standard, seuls des examens biologiques immunologiques supplémentaires seront réalisés. Aucun examen supplémentaire ne sera réalisé en dehors du prélèvement de 6 tubes de sang (42mL) pour réaliser des analyses immunologiques aux semaines 0 (début du traitement), 2, 6, 10, 16, 22 et 40 ainsi que des biopsies cutanées optionnelles aux semaines 0, 6 et 22.

Les effets secondaires possibles de ces prélèvements sont : hématome, infection au point de ponction, malaise vagal, infection au point de biopsie. Des questionnaires de qualité de vie seront également à compléter lors de la première visite puis aux semaines 2, 6, 10, 16, 22 et 40.

Tous les frais liés à la recherche seront pris en charge par le promoteur de l'étude.

7) Quelles sont les conditions de participation à la recherche ?

Afin de pouvoir participer à cette étude, vous devez être affilié(e) à un régime obligatoire d'Assurance Maladie ou ayant droit d'un assuré social.

Votre participation à cette étude nécessite que nous informions votre médecin traitant, sauf si vous le refusez.

8) Quels sont mes droits en tant que participant à la recherche ?

Vous êtes libre d'accepter ou de refuser de participer à cette recherche sans avoir à vous justifier et sans que cela ne modifie la relation de soin existant avec l'équipe médicale vous prenant en charge.

Vous n'êtes pas obligé de nous donner votre décision tout de suite ; vous disposez du temps que vous estimez nécessaire pour prendre votre décision.

Vous pouvez désigner une personne de confiance qui peut être un parent, un proche ou un médecin traitant et qui pourra vous accompagner dans vos démarches et sera consultée au cas où vous serez hors d'état d'exprimer votre volonté et de recevoir l'information nécessaire à cette fin, conformément à l'article L.1111-6 du Code de la Santé Publique.

En cas d'acceptation, vous pourrez à tout moment revenir sur votre décision, sans nous en préciser la raison, et sans que cela n'altère la qualité des soins qui vous sont dispensés.

Vous pouvez accéder directement ou par l'intermédiaire d'un médecin de votre choix à l'ensemble de vos données médicales en application des dispositions de l'article L. 1111-7 du Code de la Santé Publique.

Dans le cadre de la recherche, un traitement de vos données personnelles sera mis en œuvre pour permettre d'analyser les résultats de l'étude au regard de l'objectif de cette dernière qui vous a été présenté. A cette fin, les données médicales vous concernant ou tout autre type de données existantes seront transmises au Promoteur de la recherche ou aux personnes ou société agissant pour son compte en France ou à l'étranger. Ces données seront identifiées par un numéro de code et vos initiales. Ces données pourront également, dans des conditions assurant leur confidentialité, être transmises aux autorités de santé françaises. Conformément aux dispositions de la loi relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés, vous disposez d'un droit d'accès et de rectification. Vous disposez également d'un droit d'opposition à la transmission des données couvertes par le secret professionnel susceptibles d'être utilisées dans le cadre de cette recherche et d'être traitées. Ces droits s'exercent auprès du médecin qui vous a proposé de participer à cette étude.

Si vous le souhaitez, vous obtiendrez communication des résultats globaux de l'étude par courrier à la fin de celle-ci sur simple demande à l'un des investigateurs.

Vous n'aurez à supporter aucune charge financière supplémentaire du fait de votre participation à cette étude.

9) Le CHRU de Lille est-il autorisé à réaliser ce type de recherche ?

Oui, en application de la loi, cette étude a reçu un avis favorable d'un Comité de Protection des Personnes organisme officiel et indépendant qui a vocation à protéger la sécurité des personnes qui se prêtent à la recherche.

En outre, le CHRU de Lille, en sa qualité de promoteur, a souscrit une assurance pour la réalisation de cette étude.

10) A qui dois-je m'adresser en cas de questions ou de problèmes ?

Vous pouvez poser toutes les questions que vous souhaitez, avant, pendant et après l'étude en vous adressant à l'investigateur coordonnateur de la recherche, le Pr Yakoub-Agha (tel :03-20-44-41-76) ou au médecin investigateur dans votre centre :

Nom et prénom de l'investigateur _____

Téléphone _____

Nous vous remercions de parapher chaque page de ce document (réalisé en trois exemplaires), afin d'attester que vous l'avez lu et compris. Si vous êtes d'accord pour participer à cette étude, nous vous remercions également de bien vouloir donner votre consentement écrit en signant le formulaire ci-après.

Formulaire de consentement pour les participants à une recherche impliquant la personne humaine intitulée :

**Dynamique des populations immunocompétentes chez des patients traités par photophérèse extracorporelle
lors de la maladie chronique du greffon contre l'hôte**

Promoteur :

CHRU de Lille

2, Avenue Oscar Lambret

59037 Lille Cedex

Investigateur Coordonnateur :

Professeur Ibrahim YAKOUBAGHA

Je soussigné(e) Mme, Mlle, M. (rayer les mentions inutiles)

accepte librement et volontairement de participer à une recherche impliquant la personne humaine intitulée :

**Dynamique des populations immunocompétentes chez des patients traités par photophérèse extracorporelle
lors de la maladie chronique du greffon contre l'hôte**

dont le CHRU de Lille est promoteur et qui m'a été proposée par le Docteur/Professeur (nom, coordonnées).....

Veuillez Cocher ci-dessous :

J'ai reçu et j'ai compris l'information concernant les **analyses optionnelles portant sur la biopsie cutanée** et j'accepte d'y participer.

En cochant cette case, j'accepte que mes échantillons soient réutilisés à des fins de recherches scientifiques ultérieures.

En cochant cette case, j'exprime mon refus concernant la réutilisation de mes échantillons à des fins de recherches scientifiques ultérieures.

Etant entendu que :

- Le médecin qui m'a informé(e) et a répondu à toutes mes questions, m'a précisé que ma participation à cette étude est libre et que je peux arrêter d'y participer à tout moment en informant préalablement mon médecin.
- J'ai été clairement informé(e) des éléments suivants : But de la Recherche – Méthodologie - Durée de ma participation - Bénéfices attendus - Contraintes- Risques prévisibles.
- J'ai bien compris que pour pouvoir participer à cette recherche, je dois être affilié(e) à un régime de sécurité sociale ou être ayant-droit d'un assuré social. Je confirme que c'est bien le cas,
- J'ai bien compris que éléments biologiques seront utilisés pour réaliser les analyses nécessaires à l'étude. J'ai été informé que, si je ne m'y oppose pas, les éléments biologiques restants après analyse seront intégrés dans une collection biologique déjà existante et pour être utilisés pour d'autres analyses. J'ai été informé que je pouvais m'opposer à tout moment à cette utilisation secondaire et les conditions d'opposition m'ont bien été expliquées.
- Si je le souhaite, je serai informé(e) par le médecin des résultats globaux de cette recherche selon les modalités figurant dans la note d'information qui m'a été remise,
- Mon consentement ne décharge en rien le médecin et le promoteur de l'ensemble de leurs responsabilités et je conserve tous mes droits garantis par la loi.
- J'accepte que les données enregistrées à l'occasion de cette recherche puissent faire l'objet d'un traitement informatisé par le promoteur ou pour son compte. J'ai bien noté que le droit d'accès prévu par la CNIL (loi du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés (art. 39) s'exerce à tout moment auprès du médecin qui me suit dans le cadre de la recherche et qui connaît mon identité. Je pourrai exercer mon droit de rectification et d'opposition auprès de ce même médecin, qui contactera le promoteur de la recherche.

Fait à, le.....

Signature du participant :

Fait à, le.....

Signature du médecin investigateur ou du médecin qui le représente (barrer la mention inutile)

Le présent formulaire ainsi que la note d'information sont réalisés en trois exemplaires, dont un est remis à l'intéressé. Un exemplaire sera conservé par l'investigateur ; le dernier sera conservé par le promoteur en toute confidentialité, conformément à la loi.

2) Centre de Lille

Note d'information pour les participants à une recherche impliquant la personne humaine intitulée :

Dynamique des populations immunocompétentes chez des patients traités par photophérèse extracorporelle lors de la maladie chronique du greffon contre l'hôte

Promoteur : CHRU de Lille

Investigateur coordonnateur : Professeur Ibrahim YAKOUB-AGHA

Madame, Monsieur,

Le présent document décrit l'étude à laquelle il vous est proposé de participer. Il résume les informations actuellement disponibles en répondant aux différentes questions que vous pouvez vous poser dans le cadre de votre participation à cette recherche.

1) Pourquoi me propose-t-on de participer à cette étude ?

Vous avez eu une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques en tant que traitement pour votre hémopathie. Suite à cela, vous avez développé une maladie chronique du greffon contre l'hôte (GVH chronique) qui est une complication liée aux différences génétiques entre le donneur et le receveur. Les lymphocytes du donneur (cellules immunitaires) vont attaquer les tissus du receveur après greffe et provoquer les symptômes de la GVH chronique (qui surviennent à distance de la greffe). Afin de traiter votre GVH, nous allons associer un traitement médicamenteux (ciclosporine + corticoïdes) à la photophérèse extracorporelle (PEC). Ces traitements ont pour but d'éliminer les cellules détruisant les tissus.

2) Quel est l'objectif de la recherche ?

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence le mécanisme immunologique du traitement par photophérèse extracorporelle qui est encore peu connu bien que son efficacité sur la maladie de GVHc est démontrée. Ce traitement repose sur un effet immunologique qualifié d'immunomodulateur (qui agit sur les réactions du système immunitaire du corps). Plusieurs hypothèses sont avancées par les scientifiques. Dans cette étude française multicentrique, nous allons entreprendre un suivi immunologique avant et pendant votre traitement afin d'identifier les mécanismes d'action de la photophérèse extracorporelle.

3) Comment va se dérouler la recherche ?

Dès la suspicion d'une GVHc vous aurez une première visite qui consistera à évaluer votre éligibilité à la recherche (si vous répondez aux critères d'inclusion et de non-inclusion définis par le protocole) et à vous expliquer en détail le déroulement de chacune des visites.

L'étude vous sera expliquée de façon éclairée. Si vous avez donné votre accord, le traitement par ciclosporine + prednisone sera initié dans les 7 jours qui suivent cette consultation, puis la première séance de PEC sera réalisée dans les 3 jours suivants.

Dans le cadre de cette prise en charge thérapeutique, vous serez vu en consultation d'évaluation de la GVHc à la prise initiale de traitement, à 2 semaines, 6 semaines, 10 semaines, 16 semaines, 22 semaines et 40 semaines. L'évaluation clinique sera faite par le clinicien hématologue, un questionnaire de qualité de vie sera réalisé ainsi que des prises de sang de 6 tubes/visite (42 ml) afin d'effectuer des analyses immunologiques.

Une biopsie cutanée de 6mm sera faite à l'inclusion de façon optionnelle en cas d'atteinte cutanée avérée. Elle sera réalisée uniquement avec votre accord à la première visite, à la semaine 6 et à la semaine 22. Cette analyse est importante pour évaluer l'effet de la GVHc sur la peau (la maladie étant essentiellement tissulaire).

Le rythme des consultations avec le clinicien hématologue reste à son appréciation en dehors des consultations d'évaluation de GVHc prévues par le protocole.

En cas de progression de votre GVH chronique à n'importe quel moment ou en cas de stabilité de la GVH à 10 semaines de traitement ou à l'apparition d'une intolérance à la photophérèse, il vous sera proposé d'arrêter cette étude pour une autre ligne de traitement. Un prélèvement pour suivi immunologique, une biopsie cutanée optionnelle et une évaluation de la réponse sera réalisée à ce moment-là.

En l'absence de progression de votre maladie, votre participation à l'étude prendra fin une fois la visite de suivi à la semaine 40 réalisée.

Etude annexe :

Une étude annexe est entreprise pour vous et les autres patients suivis à Lille. Elle a pour but d'identifier les mécanismes d'actions cellulaires du traitement par PEC.

Notre étude annexe va permettre d'évaluer la quantité et la composition des cellules traitées par photophérèse lors du recueil des cellules du sang par l'automate.

En plus des prélèvements cités ci-dessus, d'autres prélèvements avant et après traitement par PEC seront réalisés afin d'évaluer l'impact direct de la PEC et son efficacité.

Votre suivi sera entrepris à différents points de traitement : séance 1, séance 12, et séance 25 de PEC.

Une prise de sang sera réalisée afin de prélever 6 tubes de 6mL de sang avant chaque séance. Puis, 1 ml de sang (avant et après traitement par PEC) sera prélevé directement sur la poche sous condition aseptique (stérile).

Cette étude n'est pas obligatoire et vous êtes libre de les refuser et tout de même de participer à l'étude principale. Si vous souhaitez refuser cette partie de l'étude, vous ne devez pas cocher la case correspondante à la page 1 du consentement éclairé.

4) Que se passera-t-il à la fin de ma participation à cette recherche ?

Les éléments biologiques seront conservés au Centre de Ressources Biologiques du CHRU de Lille jusqu'à analyse. S'il reste des échantillons sanguins après la réalisation des analyses prévues dans l'étude, nous vous proposons d'intégrer ces éléments dans une collection déjà existante au CHRU de Lille. Ces échantillons pourront alors être réutilisés pour d'autres tests biologiques, soit en lien avec la présente étude, soit des recherches sur l'immunité de l'allogreffe. Toutefois, vous pouvez exprimer votre

opposition à cette utilisation ultérieure de vos prélèvements, maintenant ou à tout moment, en adressant une copie du formulaire de consentement, après y avoir coché la case concernée, au Pr Yakoub-Agha (CHRU de LILLE – Hôpital Huriez - Services des Maladies du sang – Rue M. Polonovski 59037 LILLE Cedex)

5) Quels sont les bénéfices attendus ?

Il n'y a pas de bénéfice direct pour votre participation à cette recherche.

Cependant, l'étude Immuno PEC permettra d'accroître les connaissances sur le traitement par PEC dans le cadre de la GVHc pour améliorer à terme la prise en charge des personnes atteintes comme vous d'une GVHc.

6) La recherche comporte-t-elle des risques, des effets indésirables et/ou des contraintes particulières ?

Par rapport à la prise en charge standard, seuls des examens biologiques immunologiques supplémentaires seront réalisés. Aucun examen supplémentaire ne sera réalisé en dehors du prélèvement de 6 tubes de sang (42mL) pour réaliser des analyses immunologiques aux semaines 0 (début du traitement), 2, 6, 10, 16, 22 et 40 ainsi que des biopsies cutanées optionnelles aux semaines 0, 6 et 22. Dans le cadre de l'étude annexe, 6 tubes de 6mL de sang et 1 ml (avant et après traitement par PEC) sur la poche seront prélevés.

Les effets secondaires possibles de ces prélèvements sont : hématome, infection au point de ponction, malaise vagal ou infection au point de biopsie. Des questionnaires de qualité de vie seront également à compléter lors de la première visite puis aux semaines 2, 6, 10, 16, 22 et 40.

Tous les frais liés à la recherche seront pris en charge par le promoteur de l'étude.

7) Quelles sont les conditions de participation à la recherche ?

Afin de pouvoir participer à cette étude, vous devez être affilié(e) à un régime obligatoire d'Assurance Maladie ou ayant droit d'un assuré social.

Votre participation à cette étude nécessite que nous informions votre médecin traitant, sauf si vous le refusez.

8) Quels sont mes droits en tant que participant à la recherche ?

Vous êtes libre d'accepter ou de refuser de participer à cette recherche sans avoir à vous justifier et sans que cela ne modifie la relation de soin existant avec l'équipe médicale vous prenant en charge.

Vous n'êtes pas obligé de nous donner votre décision tout de suite ; vous disposez du temps que vous estimez nécessaire pour prendre votre décision.

Vous pouvez désigner une personne de confiance qui peut être un parent, un proche ou un médecin traitant et qui pourra vous accompagner dans vos démarches et sera consultée au cas où vous serez hors d'état d'exprimer votre volonté et de recevoir l'information nécessaire à cette fin, conformément à l'article L.1111-6 du Code de la Santé Publique.

En cas d'acceptation, vous pourrez à tout moment revenir sur votre décision, sans nous en préciser la raison, et sans que cela n'altère la qualité des soins qui vous sont dispensés.

Vous pouvez accéder directement ou par l'intermédiaire d'un médecin de votre choix à l'ensemble de vos données médicales en application des dispositions de l'article L. 1111-7 du Code de la Santé Publique.

Dans le cadre de la recherche, un traitement de vos données personnelles sera mis en œuvre pour permettre d'analyser les résultats de l'étude au regard de l'objectif de cette dernière qui vous a été présenté. A cette fin, les données médicales vous concernant ou tout autre type de données existantes seront transmises au Promoteur de la recherche ou aux personnes ou société agissant pour son compte en France ou à l'étranger. Ces données seront identifiées par un numéro de code et vos initiales. Ces données pourront également, dans des conditions assurant leur confidentialité, être transmises aux autorités de santé françaises. Conformément aux dispositions de la loi relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés, vous disposez d'un droit d'accès et de rectification. Vous disposez également d'un droit d'opposition à la transmission des données couvertes par le secret professionnel susceptibles d'être utilisées dans le cadre de cette recherche et d'être traitées. Ces droits s'exercent auprès du médecin qui vous a proposé de participer à cette étude.

Si vous le souhaitez, vous obtiendrez communication des résultats globaux de l'étude par courrier à la fin de celle-ci sur simple demande à l'un des investigateurs.

Vous n'aurez à supporter aucune charge financière supplémentaire du fait de votre participation à cette étude.

9) Le CHRU de Lille est-il autorisé à réaliser ce type de recherche ?

Oui, en application de la loi, cette étude a reçu un avis favorable d'un Comité de Protection des Personnes organisme officiel et indépendant qui a vocation à protéger la sécurité des personnes qui se prêtent à la recherche.

En outre, le CHRU de Lille, en sa qualité de promoteur, a souscrit une assurance pour la réalisation de cette étude.

10) A qui dois-je m'adresser en cas de questions ou de problèmes ?

Vous pouvez poser toutes les questions que vous souhaitez, avant, pendant et après l'étude en vous adressant à l'investigateur coordonnateur de la recherche, le Pr Yakoub-Agha (tel : 03-20-44-41-76) ou au médecin investigateur dans votre centre :

Nom et prénom de l'investigateur _____

Téléphone _____

Nous vous remercions de parapher chaque page de ce document (réalisé en trois exemplaires), afin d'attester que vous l'avez lu et compris. Si vous êtes d'accord pour participer à cette étude, nous vous remercions également de bien vouloir donner votre consentement écrit en signant le formulaire ci-après.

Formulaire de consentement pour les participants à une recherche impliquant la personne humaine intitulée :

**Dynamique des populations immunocompétentes chez des patients traités par photophérèse extracorporelle
lors de la maladie chronique du greffon contre l'hôte**

Promoteur :

CHRU de Lille

2, Avenue Oscar Lambret

59037 Lille Cedex

Investigateur Coordonnateur :

Professeur Ibrahim YAKOUBAGHA

Je soussigné(e) Mme, Mlle, M. (rayer les mentions inutiles)

accepte librement et volontairement de participer à une recherche impliquant la personne humaine intitulée :

**Dynamique des populations immunocompétentes chez des patients traités par photophérèse extracorporelle
lors de la maladie chronique du greffon contre l'hôte**

dont le CHRU de Lille est promoteur et qui m'a été proposée par le Docteur/Professeur (nom, coordonnées).....

Veuillez Cocher ci-dessous :

J'ai reçu et j'ai compris l'information concernant l'**étude annexe** et j'accepte d'y participer.

J'ai reçu et j'ai compris l'information concernant les **analyses optionnelles portant sur la biopsie cutanée** et j'accepte d'y participer.

En cochant cette case, j'accepte que mes échantillons soient réutilisés à des fins de recherches scientifiques ultérieures.

En cochant cette case, j'exprime mon refus concernant la réutilisation de mes échantillons à des fins de recherches scientifiques ultérieures.

Etant entendu que :

- Le médecin qui m'a informé(e) et a répondu à toutes mes questions, m'a précisé que ma participation à cette étude est libre et que je peux arrêter d'y participer à tout moment en informant préalablement mon médecin.
- J'ai été clairement informé(e) des éléments suivants : But de la Recherche – Méthodologie - Durée de ma participation - Bénéfices attendus - Contraintes- Risques prévisibles.
- J'ai bien compris que pour pouvoir participer à cette recherche, je dois être affilié(e) à un régime de sécurité sociale ou être ayant-droit d'un assuré social. Je confirme que c'est bien le cas,
- J'ai bien compris que éléments biologiques seront utilisés pour réaliser les analyses nécessaires à l'étude. J'ai été informé que, si je ne m'y oppose pas, les éléments biologiques restants après analyse seront intégrés dans une collection biologique déjà existante et pour être utilisés pour d'autres analyses. J'ai été informé que je pouvais m'opposer à tout moment à cette utilisation secondaire et les conditions d'opposition m'ont bien été expliquées.
- Si je le souhaite, je serai informé(e) par le médecin des résultats globaux de cette recherche selon les modalités figurant dans la note d'information qui m'a été remise,
- Mon consentement ne décharge en rien le médecin et le promoteur de l'ensemble de leurs responsabilités et je conserve tous mes droits garantis par la loi.
- J'accepte que les données enregistrées à l'occasion de cette recherche puissent faire l'objet d'un traitement informatisé par le promoteur ou pour son compte. J'ai bien noté que le droit d'accès prévu par la CNIL (loi du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés (art. 39) s'exerce à tout moment auprès du médecin qui me suit dans le cadre de la recherche et qui connaît mon identité. Je pourrai exercer mon droit de rectification et d'opposition auprès de ce même médecin, qui contactera le promoteur de la recherche.

Fait à, le.....

Signature du participant :

Fait à, le.....

Signature du médecin investigateur ou du médecin qui le représente (barrer la mention inutile)

Le présent formulaire ainsi que la note d'information sont réalisés en trois exemplaires, dont un est remis à l'intéressé. Un exemplaire sera conservé par l'investigateur ; le dernier sera conservé par le promoteur en toute confidentialité, conformément à la loi.

ANNEXE 10 : Atelier de la SFGM-TC

Hématologie

Hématologie 2015 ; 21 (supplément 3) : 4-9

Photophérèse extracorporelle

Copyright © 2016 John Libbey Eurotext. Téléchargé par SCD Lille le 04/07/2016.

| | |
|-------------------------|---|
| Co-responsables | Léonardo Magro Yves Chalandon |
| Participants | Eva de Berranger Christine Giraud Gaelle Guillem Suzanne Mathieu-Nafissi Mauricette Michallet Bilal Mohy Nathalie Parquet Cécile Pochon Reza Tabrizi Jean-Baptiste Thibert |
| Expert | Arnaud Lionet |
| Lecteurs | Bénédicte Bruno Francis Bauters Jérôme Cornillon Ibrahim Yakoub-Agha |
| Questions posées | Quelles sont les indications de la photophérèse extracorporelle en allogreffe de cellules souches hématopoïétiques ? Y-a-t-il une différence entre le système ouvert et le système fermé ? Quel schéma de traitement à proposer ? Les précautions à prendre : Pendant les séances ? En dehors des séances ? Quel suivi à proposer ? |

Pour citer cet article : Photophérèse extracorporelle. Hématologie 2015 ; 21 (supplément 3) : 4-9 doi:10.1684/hma.2015.1048

BPO151023034/19991/01/FFP

État actuel de la question

La photophérèse extracorporelle (PEC) est un traitement immunomodulateur en trois étapes [1] :

- prélèvement par aphérèse de cellules mononucléées (CMN) autologues circulantes au moyen d'un séparateur de cellules ;

- exposition des CMN aux UVA en présence d'un photosensibilisant le 8-méthoxypsoralène (8-MOP) ;

- réinjection des cellules traitées par ce procédé au patient. Selon le type de séparateur disponible, ces trois étapes sont réalisées en système ouvert ou fermé. Vingt-cinq centres ont répondu à l'enquête nationale menée. Soixante-dix pour cent utilisent la technique en circuit fermé.

L'exposition des CMN au 8-MOP suivie de leur photoactivation par les UVA déclenche leur entrée en apoptose. Les données de la littérature suggèrent que l'injection de cellules apoptotiques induirait un état de tolérance immunitaire dans des situations cliniques telles que celles de la réaction du greffon contre l'hôte (GVH) [2]. Les cellules apoptotiques injectées sont alors phagocytées par les cellules présentatrices d'antigènes du patient entraînant plusieurs changements fonctionnels :

- diminution de la production de cytokines pro-inflammatoires (par ex. : IL-2, IL-12 et TNF- α) ;

- augmentation de la production de cytokines anti-inflammatoires (particulièrement l'IL-10 et le TGF- β) ;

- baisse de la capacité d'activation des réponses des cellules T ;

- suppression des cellules effectrices T CD8 ;

- stimulation des cellules T régulatrices.

Des articles très récents démontrent l'induction par la PEC de tolérance dans des modèles animaux et chez l'homme [3, 4].

Le choix de la PEC comme traitement de GVH ne prend pas en considération la prophylaxie de la GVH, le conditionnement et la source cellulaire. La PEC a la même place que les autres traitements immunosuppresseurs de seconde ligne [5]. Mais elle semblerait plus efficace en cas de GVH cutanée.

Son avantage est une immunomodulation plutôt qu'une immunosuppression, limitant les risques infectieux. Ses limites en sont l'accès à la technique (séparateur, organisation de service...), l'abord veineux, les risques de la prise en charge de patients fragiles (thrombopénie, leucopénie et l'allergie au 8-MOP) [1]. Selon le volume extracorporel et les caractéristiques du patient, l'hématocrite minimal requis doit être de 25 à 28 %.

La prise en charge par PEC est donc basée dans un premier temps sur la disponibilité par centre du système ouvert et/ou fermé. Elle peut être réalisée par des centres de transfusion sanguine (EFS) ou établissements de santé avec lesquels une convention devra être établie. Pour le système

ouvert, la législation française considère le 8-MOP comme un produit thérapeutique annexe. Cela impose une structure et un personnel avec autorisation de préparation de thérapie cellulaire par l'ANSM. Selon l'avis des experts, il n'y a pas d'infériorité d'efficacité clinique d'un système vis-à-vis d'un autre (ouvert/fermé) (tableau 1).

Actuellement, il n'y a, selon l'avis des experts et les données de la littérature, aucun élément qui justifie de réaliser les séances de PEC sur deux jours consécutifs. De même nous manquons de critères cliniques ou biologiques pour guider la fréquence et la durée du traitement. Sur ces deux points, nous proposerons des recommandations. Des études protocolaires prospectives et une harmonisation des pratiques seraient nécessaires afin de répondre formellement à cette question.

Les indications en prévention sont basées sur des études scientifiques prometteuses mais qui ne peuvent être appliquées que dans le cadre d'études protocolaires prospectives [3, 6, 7]. Les bénéfices de la PEC chez les répondeurs, essentiellement démontrés dans le domaine de la maladie du greffon contre l'hôte chronique (GVHc), sont [8, 9] :

- la réduction des traitements immunosuppresseurs avec épargne cortisonique ;

- la réduction potentielle de la mortalité non liée à la rechute et l'augmentation de la survie globale ;

- l'absence d'augmentation du risque de rechute ;

- l'amélioration de la qualité de vie.

De plus, il ne semble pas y avoir de différence d'efficacité entre adultes et enfants [10].

Méthodologie

Une revue de la littérature et une enquête nationale sur les habitudes de chaque centre français et d'un centre suisse sur la place de la PEC dans la prise en charge de la GVH ont été réalisées. Ces données ont été associées aux avis d'experts.

Recommandations

Généralités

Nous proposons d'utiliser le terme de photophérèse et non plus photo-chimiothérapie afin de ne pas induire d'ambiguïté dans la compréhension des patients.

Une information et des explications sur la procédure de PEC seront données au patient par l'équipe en charge de la technique, au cours d'un entretien. Le capital veineux du patient sera également évalué.

Abords veineux

L'abord veineux périphérique doit être privilégié. En cas d'impossibilité d'abord périphérique, la pose d'un cathéter



Tableau 1
Avantages/inconvénients (références de l'HAS actualisées avec Cellex).

| Procédure | Avantages | Inconvénients |
|----------------------------------|--|---|
| Système fermé (UVAR™, XTS™) | Simplicité de mise en œuvre et de réalisation Système « tout en un » pour le prélèvement du sang, l'extraction, le traitement et la réinjection des CMN Utilisation d'un 8-MOP de qualité pharmaceutique | Volume extracorporel important (risque hémodynamique) Volume traité plus faible pour le système ouvert Contamination en globules rouges plus importante (hématocrite \geq 4 %) Aucun contrôle après l'irradiation Coût plus important |
| Système dissocié (multi-support) | Contamination minimale en globules rouges (hématocrite < 2 %) Volume de sang traité plus important que dans le système fermé Extraction d'une quantité plus importante de CMN Contrôle de qualité avant et après l'irradiation possible Produit final standardisé en volume et en concentration de 8-MOP Technique adaptée aux petits volumes et à la pédiatrie Utilisation d'appareils non dédiés Coût réduit par rapport au système fermé | Risque de contamination bactérienne des poches (en absence de contamination stérile) Possibilité d'erreur d'attribution Autorisation de réalisation de thérapie cellulaire nécessaire (8-MOP au statut PTA) |

CMN : cellules mononuclées ; 8-MOP : 8-méthoxyypsoralène ; PTA : liste des produits thérapeutiques annexes ; Ht : hématocrite.

tunnelisé de dialyse ou d'aphérèse doit être discutée avec l'équipe de greffe. Les caractéristiques du cathéter seront données par l'équipe en charge de la PEC.

Utilisation de la photophérèse extracorporelle en prophylaxie

La PEC en prophylaxie ne peut être réalisée en dehors de protocoles thérapeutiques. Une étude pilote a inclus 20 patients, elle est actuellement clôturée et en cours d'analyse.

Utilisation curative de la photophérèse extracorporelle

La PEC est généralement recommandée dans le traitement curatif de la GVH notamment chronique, en seconde ligne. Il semblerait selon les études publiées que la précocité de la mise en place a une influence sur l'efficacité de la PEC, que ce soit pour la GVH aiguë (GVHa) ou GVHc [9, 11-13].

GVHa

Les GVHa cortico-résistantes ou cortico-dépendantes de grade 2 répondent mieux que les grades 3-4. Le taux de réponse est différent en fonction de la localisation.

À ce jour, aucune étude randomisée prospective n'est publiée. Par ailleurs, la littérature n'établit pas de différence d'efficacité entre deux et trois séances par semaine en phase d'initiation.

Rythme de prise en charge initial

Selon l'avis des experts, on peut proposer par sécurité trois séances/semaine pendant les quatre premières semaines de prise en charge puis deux séances/semaine pendant les quatre semaines suivantes. Une évaluation clinique sera réalisée après au moins six semaines. Le traitement immunosuppresseur initial sera maintenu.

Évaluation de la réponse et adaptation du rythme de prise en charge

En cas de réponse complète à la PEC, la corticothérapie sera diminuée progressivement selon les habitudes de centre jusqu'à arrêt. Le rythme de la PEC ne sera pas diminué tant que la corticothérapie est $>$ 20 mg/j pour l'adulte et $>$ 0,5 mg/kg/j chez l'enfant.

En cas de réponse partielle et/ou avec des doses de corticoïdes $>$ 20 mg/j ou $>$ 0,5 mg/kg/j chez l'enfant, un autre traitement immunosuppresseur pourra être associé et la PEC sera maintenue à deux séances/semaine. La durée totale sera déterminée sur l'évolution clinique.

Hématologie, vol. 21, supplément3, décembre 2015

Après une stabilité d'une réponse maximale, le traitement d'entretien n'ayant pas fait preuve de son intérêt, un arrêt sera envisageable [14, 15].

En cas de progression, la PEC sera arrêtée, sans décroissance du nombre de séances.

GVHc

La PEC est indiquée en seconde ligne au même titre que le mycophénolate mofétil, les inhibiteurs de mTOR et les inhibiteurs de calcineurine [16, 17].

La PEC pourra être proposée chez les patients atteints de GVHc :

- réfractaires, en progression sous corticothérapie à 1 mg/kg/j pendant deux semaines ;
- stables sous corticothérapie à 0,5 mg/kg/j pendant quatre à huit semaines ;

- cortico-dépendants (impossibilité de descendre en dessous de 0,5 mg/kg/j ou 10 mg/j) ;
- ou avec complications liées à la corticothérapie.

La PEC a montré une efficacité certaine sur la peau et les muqueuses. Concernant les autres atteintes d'organes, les résultats semblent très prometteurs mais variables [10]. La précocité de la mise en place pourrait être un élément d'amélioration de la réponse. Ces résultats sont à relativiser du fait d'une très grande hétérogénéité des études et d'une variabilité de prise en charge.

Rythme de prise en charge initiale

Les recommandations de rythme de PEC seront à adapter en fonction de la faisabilité de chaque centre (figure 1) [9, 18].

En phase d'induction, nous proposons deux séances/semaine pendant six semaines. Au bout de six semaines, la réponse à la PEC doit être évaluée. La réponse au traitement

Copyright © 2016 John Libbey Eurotext. Téléchargé par SCD Lille le 04/07/2016.

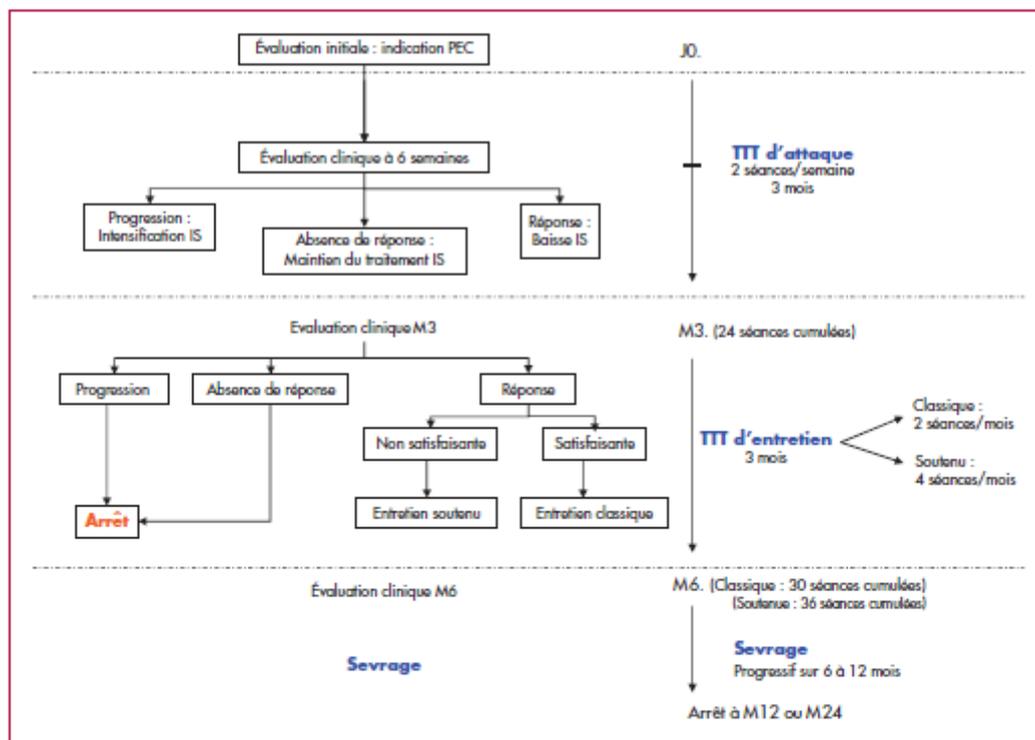


Figure 1. Schéma de prise en charge de la GVHc en PEC.
IS : *in situ* ; PEC : photophrèse extracorporelle ; ITT : traitement.

sera basée sur l'évaluation clinique réalisée par le médecin à l'aide de la classification de NIH et le questionnaire de qualité de vie de LEE rempli par les patients.

Évaluation et adaptation du rythme de prise en charge

Si réponse clinique à la PEC, les traitements immunosuppresseurs pourront être diminués et la PEC sera poursuivie à un rythme de deux séances par semaine pendant encore six semaines.

Si maintien de la réponse, le rythme sera ajusté à raison de deux à quatre séances dans le mois qui suit en fonction de la gravité initiale de la GVHc, pour une durée de trois mois. Si maintien de la réponse, il convient de diminuer progressivement le nombre de séances sur une période de six mois ou sur une période plus longue pour les formes initialement graves.

Pour les non-répondeurs à six semaines d'induction, il convient de maintenir le rythme d'induction pendant encore six semaines. Si échec après 12 semaines, la PEC sera arrêtée.

Pour les patients en progression sous PEC au cours des six premières semaines de traitement, il convient de maintenir la PEC et d'ajouter un nouvel immunosuppresseur supplémentaire.

Informations pratiques pour les cliniciens et les patients

- Protection solaire (écran total, lunettes) dans les 24 heures qui suivent une séance.
- Être attentif en cas d'association avec d'autres traitements photo-sensibilisants (voriconazole, etc.).
- Limiter l'alimentation grasse avant les séances (orale ou parentérale).
- Être attentif au bilan martial.
- Il est possible d'observer une apparition ou une majoration d'une lymphopénie.
- Penser à décaler une séance en cas de thrombopénie < 30 000/mm³.
- Penser à prévoir les soins de cathéter à domicile si voie centrale utilisée.

Questions résiduelles

- Les études prospectives étant difficiles de réalisation, nous proposons dans le cadre de la SFGM-TC de mettre en place un registre des patients traités.
- Intérêt de la PCE en première ligne ?
- Poursuite des études en prophylaxie.
- Corrélation entre le nombre de cellules traitées et la réponse à la PEC ?

- Influence de la PEC sur les autres lignées cellulaires que les CMN ?
- Marqueurs biologiques prédictifs de la GVH et spécifiques de la réponse à la PEC [3, 4] ?

Conflits d'intérêts: La SFGM-TC reçoit l'aide financière des laboratoires Amgen, Astellas, Biosafe, Celgene, Chugai, Jazz Pharmaceuticals, Gentium, Gilead, Janssen, Keocyt, Macopharma, MSD, Mundipharma, OrpheliPharm, Pfizer, Pierre-Fabre, Sandoz, Sanofi, Spectrum, Takeda, Teva, Therakos, Vifor Pharma. ■

RÉFÉRENCES

1. HAS, 2010. http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2010-05/photochimiotherapie_extracorporelle-rapport.pdf.
2. Peritt D. Potential mechanisms of photopheresis in hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006; 12(11 Suppl 2): 7-12.
3. Florek M, Segal EI, Leveson-Gower DB, et al. Autologous apoptotic cells preceding transplantation enhance survival in lethal murine graft-versus-host models. *Blood* 2014; 124: 1832-42.
4. Rieber N, Wecker I, Neri D, et al. Extracorporeal photopheresis increases neutrophilic myeloid-derived suppressor cells in patients with GVHD. *Bone Marrow Transplant* 2014; 49: 545-52.
5. Jagasia M, Greinix H, Robin M, et al. Extracorporeal photopheresis versus anticytokine therapy as a second-line treatment for steroid-refractory acute GVHD: a multicenter comparative analysis. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013; 19: 1129-33.
6. Foss FM, DiVenuti GM, Chin K, et al. Prospective study of extracorporeal photopheresis in steroid-refractory or steroid-resistant extensive chronic graft-versus-host disease: analysis of response and survival incorporating prognostic factors. *Bone Marrow Transplant* 2005; 35: 1187-93.
7. Ferrara J. Cellular therapy of the host to prevent GVHD. *Blood* 2014; 124: 1703-4.
8. Flowers ME, Apperley JF, van Besien K, et al. A multicenter prospective phase 2 randomized study of extracorporeal photopheresis for treatment of chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2008; 112: 2667-74.
9. Greinix HT, van Besien K, Elmaagachi AH, et al. Progressive improvement in cutaneous and extracutaneous chronic graft-versus-host disease after a 24-week course of extracorporeal photopheresis—results of a crossover randomized study. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014; 17: 1775-82.
10. Malik M, Litzow M, Hogan W et al. Extracorporeal photopheresis for chronic graft-versus-host disease: a systematic review and meta-analysis. *Blood Res* 49: 100-6.
11. Messing C, Locatelli F, Lanino E, et al. Extracorporeal photopheresis for paediatric patients with graft-versus-host disease after haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2003; 122: 118-27.
12. Child FJ, Rainavel R, Watkins P, et al. Extracorporeal photopheresis (ECP) in the treatment of chronic graft-versus-host disease (GVHD). *Bone Marrow Transplant* 1999; 23: 881-7.
13. Das-Gupta E, Greinix H, Jacobs R, et al. Extracorporeal photopheresis as second-line treatment for acute graft-versus-host disease:



impact on six-month freedom from treatment failure. *Haematologica* 2014; 99: 1746-52.

14. Knobler R, Berlin G, Calzavara-Pinton P, et al. Guidelines on the use of extracorporeal photopheresis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2014; 28(Suppl 1): 1-37.

15. Das-Gupta E, Dignan F, Shaw B, et al. Extracorporeal photopheresis for treatment of adults and children with acute GVHD: UK consensus statement and review of published literature. *Bone Marrow Transplant* 2014; 49: 1251-8.

16. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials

in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11: 945-56.

17. Wolff D, Schleuning M, von Harsdorf S, et al. Consensus Conference on Clinical Practice in Chronic GVHD: Second-Line Treatment of Chronic Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; 17: 1-17.

18. Pierelli L, Perseghin P, Marchetti M, et al. Extracorporeal photopheresis for the treatment of acute and chronic graft-versus-host disease in adults and children: best practice recommendations from an Italian Society of Hemapheresis and Cell Manipulation (SIdEM) and Italian Group for Bone Marrow Transplantation (GITMO) consensus process. *Transfusion* 2013; 53: 2340-52.

ANNEXE 11: Protocole d'utilisation de la technique de PEC au lit du patient

L'ensemble de la procédure est réalisée dans une pièce dédiée, un patient à la fois.

Protocole d'utilisation de la technique off-line de Photophérese au lit du patient

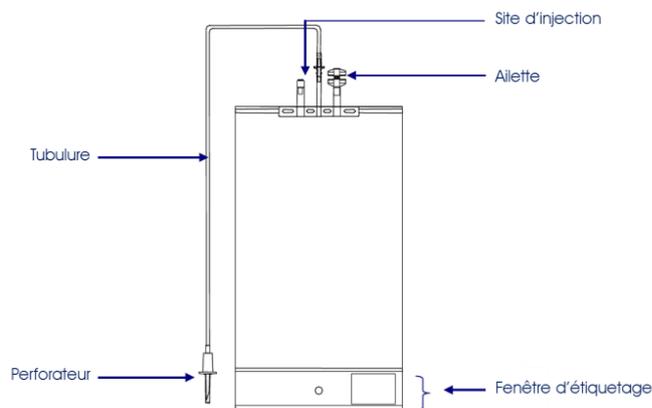
Matériels utilisés :

ETAPE D'APHERESE

- Système d'aphérese par centrifugation bénéficiant d'un marquage CE pour cette application (Spectra Optia - Terumo BCT, COM-TEC – Fresenius, Amicus - Fresenius)

ETAPE D'IRRADIATION

- 1 flacon de Methoxsalène 20 µg/mL (8-MOP)
- 1 poche EVA pour le traitement U.V. des cellules sanguines Réf. XUV8501Q



- Machine d'irradiation : **MacoGenic G2**
Réf. 9MG2000



- 1 poche de 100 mL de solution saline 0.9% NaCl
- 1 seringue + 1 aiguille
- Set de transfert de poche à poche

ETAPE DE REINJECTION

- 1 set de transfusion pourvu d'un microfiltre 200µ

Installation au lit du patient

Espace dédié pour la préparation de la poche
(transfert de poche, ajout du 8-MOP,
prélèvement des échantillons)



Espace dédié
pour la machine
d'aphérèse

Principales étapes

ETAPE 1 : Identification

Identifier le patient avec le bracelet contenant son numéro. Dès le lancement de l'étape d'aphérèse coller sur la poche de collecte du kit d'aphérèse, l'étiquette d'identité patient munie d'un code à barre.



ETAPE 2 : Prélèvement des cellules mononuclées

Prélever un volume de 50 mL de cellules mononuclées (CMNs) par aphérèse à l'aide du séparateur de cellules présent dans le service (selon les recommandations du fournisseur et les critères spécifiés dans le protocole).

ETAPE 3 : Premier échantillonnage (optionnel se référer au protocole)

- Les contrôles effectués en routine dans l'unité pourront être réalisés à chaque étape et devront respecter les recommandations du fournisseur et les procédures en vigueur dans l'établissement.



ETAPE 4 : Ajout de 100 mL de solution saline 0.9% NaCl dans la poche d'aphérèse

- Connecter une ligne de perfusion à la poche de solution saline 0.9% NaCl via l'ailette. Pour cela, ouvrir l'ailette et y insérer le perforateur de la ligne de perfusion.
- Puis, connecter cette ligne de perfusion au niveau du filtre présent sur la tubulure de la poche d'aphérèse.
- Ouvrir le clamp et ajouter 100 mL de solution saline 0.9% NaCl. Refermer le clamp et souder la tubulure du filtre puis le détacher.

ETAPE 5 : Transfert des cellules dans la poche d'irradiation

- Apposer sur la fenêtre d'étiquetage de la poche d'irradiation, l'étiquette d'identité patient munie d'un code à barre.



- A l'aide du perforateur présent sur la poche d'irradiation, insérer celui-ci au travers de l'ailette de la poche d'aphérèse afin de transférer par gravité, les CMNs dans la poche d'irradiation.
- Une fois le transfert terminé, souder la tubulure et détacher le perforateur.
- Séparer les deux feuillets de la poche d'irradiation afin de répartir uniformément les cellules dans la poche d'irradiation.

ETAPE 6 : Ajout de 2,5 mL de Methoxsalène 20µg/mL (8-MOP).

- Prélever 2,5 mL de Methoxsalène (8-MOP) à l'aide d'une seringue avec aiguille. Puis, l'insérer au travers du site d'injection de la poche d'irradiation et injecter le contenu de la seringue.
- Agiter doucement la poche d'irradiation pour homogénéiser le contenu.

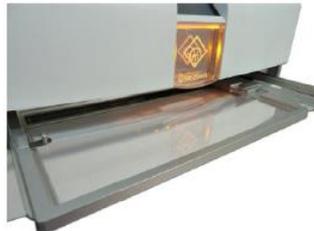


ETAPE 7 : Irradiation

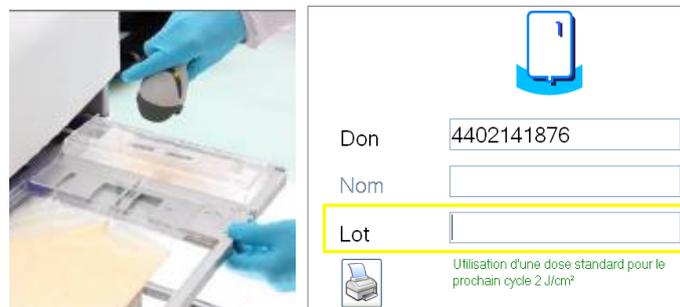
- Allumer la *MacoGenic G2*, sélectionnez votre identifiant et entrez votre mot de passe.



- Attendre que la porte frontale de la *MacoGenic G2* soit descendue puis tirer sur le plateau afin de le sortir entièrement.



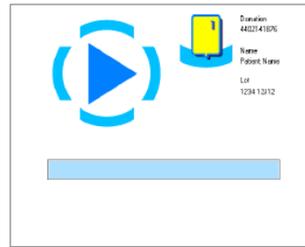
- Placer la poche d'irradiation sur le tiroir de la *MacoGenic G2*.
- Scanner le numéro de don et le code lot de la poche d'irradiation via le scanner de la *MacoGenic G2*.



- Pousser le tiroir (attention : la porte frontale de la *MacoGenic G2* se ferme automatiquement).



- Lancer la procédure d'irradiation en cliquant sur l'icône ▶ sur l'écran (la lumière frontale est clignotante durant la procédure). La dose d'irradiation est préalablement programmée à 2 J/cm².



- La procédure d'irradiation est terminée lorsque la lumière frontale est fixe (la lumière ne clignote plus).
- Cliquer de nouveau sur l'icône ► pour faire descendre la porte frontale.
- Tirer sur le tiroir pour l'ouvrir entièrement et récupérer la poche d'irradiation. Le rapport d'irradiation et les étiquettes sont générés automatiquement en fin d'irradiation.

ETAPE 8 : Second échantillonnage (se référer au protocole)

Prélever le second échantillon après irradiation, à l'aide d'une seringue avec aiguille. Pour cela, insérer l'aiguille au travers du site d'injection présent sur la poche d'irradiation.



ETAPE 9 : Réinjection des cellules traitées au patient

- Connecter un set de transfusion via l'ailette située sur la poche d'irradiation. Pour cela, ouvrir l'ailette et y insérer le perforateur de la ligne.
- Puis transférer les cellules traitées au patient.



Insérer le perforateur de la ligne de transfusion.

ANNEXE 12: Tableau d'adaptation des posologies d'immunosuppresseurs

- **Exemple d'adaptation de dose de la prednisone+ ciclosporine en fonction de la réponse clinique**

| Semaine | Dose (mg/kg/jour) | | | | | | |
|---------|-------------------|--------------|------------|--------------|------------|--------------|-------------|
| | RC | | RP | | NR/RMX | | Progression |
| | Prednisone | Ciclosporine | Prednisone | Ciclosporine | Prednisone | Ciclosporine | |
| 0 | 1.5 | 3 | 1.5 | 3 | 1.5 | 3 | sortie |
| 2 | 1.2 | 3 | 1.2 | 3 | 1.2 | 3 | sortie |
| 4 | 0.8 | 3 | 0.8 | 3 | 1.2 | 3 | sortie |
| 6 | 0.6 | 3 | 0.6 | 3 | 1.2 | 3 | sortie |
| 8 | 0.4 | 2.5 | 0.4 | 2.5 | 1.2 | 3 | sortie |
| 10 | 0.3 | 2.5 | 0.3 | 2.5 | sortie | | sortie |
| 12 | 0.25 | 2 | * | * | sortie** | | sortie |
| 14 | 0.20 | 1.5 | * | * | sortie** | | sortie |
| 16 | 0.1 | 1 | * | * | sortie** | | sortie |
| 18 | 0.05 | 0.5 | * | * | sortie** | | sortie |
| 20 | 0 | 0.2 | * | * | sortie** | | sortie |
| 22 | 0 | 0 | * | * | sortie** | | sortie |

* Si absence de réponse supplémentaire la cortisone est laissée à 0.3 mg/kg/j et la ciclosporine à 2.5 mg/kg/j. Si on obtient une RC entreprendre une diminution de la corticothérapie et de la ciclosporine comme pour la colonne RC en commençant par la dose 0.25 mg/kg/j pour la prednisone et 2 mg/kg/j pour la ciclosporine.

** Dès la S12 et en cas de réponses NR/RMX, la sortie n'est pas imposée et le traitement peut être poursuivi selon l'appréciation du clinicien hématologue.

- **Les réponses NR, PM et RMX sont considérées comme des échecs de traitement.**

Les patients concernés sortiront de l'étude lors de l'évaluation de la réponse à la 10^e semaine (fin du traitement d'induction) ou à tout autre moment selon l'appréciation du clinicien hématologue.

- **Si le patient présente une exacerbation ou une rechute de la GVHc quelque-soit l'étape de diminution de posologie de prednisone et/ou de la ciclosporine, la dose doit être ré-augmentée et laissée à l'appréciation du clinicien hématologue en charge du patient.**

Un patient développant une insuffisance rénale en cours de protocole ne sera pas exclu.