



HAL
open science

Incidence, étiologie et impact pronostique des profils électrophorétiques atypiques chez les patients de pathologie myéloïde recevant une allogreffe de Cellules Souches Hématopoïétiques

Kaies Hedhli

► **To cite this version:**

Kaies Hedhli. Incidence, étiologie et impact pronostique des profils électrophorétiques atypiques chez les patients de pathologie myéloïde recevant une allogreffe de Cellules Souches Hématopoïétiques. Sciences pharmaceutiques. 2022. dumas-03983314

HAL Id: dumas-03983314

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03983314v1>

Submitted on 6 Dec 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

UNIVERSITÉ DE PICARDIE JULES VERNE
UFR DE PHARMACIE D'AMIENS

Année universitaire : 2021-2022

Thèse N°.....

**THESE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

*Présentée et soutenue publiquement le 12/05/2022 à la
Faculté de Pharmacie d'Amiens*

Par Kaies HEDHLI

**Incidence, étiologie et impact pronostique des profils
électrophorétiques atypiques chez les patients atteints de
pathologie myéloïde recevant une allogreffe de Cellules Souches
Hématopoïétiques**

JURY :

Président : Monsieur le Professeur Antoine Galmiche

Assesseurs :

Madame le Docteur Delphine Lebon

Monsieur le Docteur Thomas Boyer

Monsieur le Docteur Etienne Brochot

Directeur de thèse : Madame le Docteur Chloé Sauzay

Remerciements :

Aux membres du jury,

Monsieur le professeur Antoine Galmiche,

Vous me faites l'honneur de présider ce jury. Merci pour le temps que vous y accordez et pour l'intérêt que vous portez pour ce travail. Veuillez trouver ici le témoignage de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

Madame le docteur Delphine Lebon,

Vous me faites l'honneur de participer au jury de ma thèse. Il était important à mes yeux de pouvoir présenter ce travail à un hématologue. Je vous remercie de l'intérêt que vous avez porté à mon travail. Recevez ici toute ma reconnaissance.

Monsieur docteur Thomas Boyer,

Merci d'avoir accepté de juger ce travail. Je tenais à te remercier sincèrement pour toute la bienveillance et pour tous ce que tu m'as apporté lors de mon passage dans le service d'hématologie-biologie.

Monsieur le docteur Etienne Brochot,

Merci d'avoir accepté de juger ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de mes sentiments respectueux.

Madame le docteur Chloé Sauzay

Tu m'as fait l'honneur de diriger cette thèse. Tu m'avais soutenu et guidé tout au long de ce travail. Ce projet n'aurait pu être possible sans toi. Tu m'as suivi avec obstination et toujours aidé avec la pertinence et la rigueur qui te caractérisent, et tout ça avec le sourire.

Je t'exprime ma profonde reconnaissance pour m'avoir encouragé, dirigé et soutenu dans ce travail de thèse.

A tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail :

Valentin Clichet,

Docteur Amandine Charbonnier,

Professeur Sandrine Castelain,

Professeur Antoine Galmiche,

Professeur Jean-Pierre Marolleau,

Docteur Thomas Boyer,

Docteur Alexis Caulier,

Docteur Chloé Sauzay

Je vous remercie de l'intérêt que vous avez porté à mon travail, pour votre disponibilité et vos précieux conseils. Recevez ici toute ma reconnaissance.

A mes enseignants,

Formels et informels qui m'ont transmis leurs savoir, que ce soit à travers leur rôle universitaire, hospitalier, médical, technicien. Merci d'être source de curiosité de stimulation.

A mes courageux relecteurs,

Monsieur le Professeur Pierre Duhaut

Merci pour votre disponibilité et vos précieux conseils. Veuillez trouver ici l'expression de mes sentiments respectueux.

A ma famille,

A mes amis,

A mes collègues,

A ma chérie,

Je n'aurai pas sans doute assez de place sur ces quelques lignes pour vous exprimer ma plus profonde reconnaissance pour votre soutien et pour m'avoir apporté deux fois plus de joie et de bonheur qu'une simple vie pouvait en contenir.

Table des figures :

Figure 1: Interaction entre TCR et complexe HLA-antigène ⁷	10
Figure 2 : Mécanismes de l'alloréactivité (directe et indirecte) ⁷	11
Figure 3 : Conséquences de l'alloréactivité des lymphocytes suite à une allogreffe de CSH ⁷	12
Figure 4 : : Évolution du nombre d'allogreffes de CSH selon le type de donneur CSH ¹⁴	13
Figure 5 : Évolution de la répartition des sources de greffon de CSH allogénique ¹⁴	14
Figure 6 : Déroulement de l'allogreffe de CSP. Figure réalisée à partir de BioRender	14
Figure 7 : Répartition des indications de l'allogreffe (France) ¹	15
Figure 8 : Activité de greffe au CHU d'Amiens depuis 2016 (source : CHU Amiens)	15
Figure 9 : Cinétique de la reconstitution immunitaire après une HSCT (Source : The EBMT Handbook 2019)	16
Figure 10 : Illustration chronologique du risque d'infectieux (source the EBMT Handbook 2019)	17
Figure 11 : Mécanismes immunologiques de la réaction du GVHD ³¹	18
Figure 12 : Principe de l'électrophorèse capillaire (Source : Sébia)	24
Figure 13 : Protéinogramme ou profil électrophorétique normal.	24
Figure 14 : Exemples de tracés électrophorétiques.	25
Figure 15 : Exemple de résultats d'immunofixation des protéines sériques.	27
Figure 16 : Exemples de profils électrophorétiques atypiques chez des patients allogreffés.	28
Figure 17 : Récapitulatif de la méthodologie.....	30
Figure 18 : Impact du statut CMV sur l'apparition d'une EPS atypique.....	35
Figure 19 : Impact de la GVHD aiguë sur le développement d'une EPS atypique.	36
Figure 20 : Impact de la présence d'une EPS atypique sur la rechute.)	37
Figure 21 : Impact de la présence d'une EPS atypique sur la survie globale (OS).....	38
Figure 22 : Impact de la réactivation du CMV et de la maladie aiguë de GVD sur la survie globale.	38
Figure 23 : Impact du délai d'apparition de l'EPS atypique sur la survie globale..	39
Figure 24 : Impact de la présence d'une EPS atypique sur la survie globale (OS)	40

Table des tableaux

Tableau 1: Suivi clinico-biologique des patients post allo-HSCT ^{50 6 51 52}	22
Tableau 2 : Caractéristiques cliniques de la cohorte totale(n=117) et des sous-groupes (atypique n=50 ; Non atypique n=67)	33
Tableau 3 : Réactivations virales selon le profil EPS	34
Tableau 4 : Analyses univariées et multivariées de l'incidence des EPS atypiques.....	36
Tableau 5 : Analyses univariées et multivariées de la survie globale.	39

Abréviations

ALAT	Alanine amino-transférase
ASAT	Aspartate amino-transférase
CD	Cluster de différenciation
CPA	Cellule présentatrice d'antigène
CSH	Cellules souches hématopoïétique
CSP	Cellules souches périphériques
DLI	Injection lymphocytes de donneur
ECBC	Examen cytbactériologique des crachats
ECBU	Examen cytbactériologique des urines
EPS	Électrophorèse des protéines sériques
ETT	Échocardiographie Trans-Thoracique
G-CSF	Granulocyte colony- stimulating factor
GVHD	Graft versus host disease
GVL	Graft versus leukemia
GVT	Graft versus tumor
HLA	Humain leucocyte antigen
HSCT	Hematopoietic stem-cell transplantation
IF	Immunofixation
IFI	Infection fongique invasive
IM	Immunoglobuline monoclonale
LAL	Leucémie aigüe lymphoïde
LAM	Leucémie aigüe myéloïde
Lc B	Lymphocyte B
Lc T	Lymphocyte T
LNH	Lymphome non Hodgkinien
MGUS	Gammapathie monoclonale de signification indéterminée
PEA	Profil électrophorétique atypique
T3L	Triiodothyronine libre
T4L	Thyroxine libre
TCR	T cell receptor
TNF α	Tumor Necrosis Factor alpha
TRM	Transplant related mortality
TSH	Thyroid Stimulating Hormone

Table des matières

REMERCIEMENTS :	2
TABLE DES FIGURES :	4
TABLE DES TABLEAUX	4
ABREVIATIONS	5
I. INTRODUCTION :	8
II. PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	9
A. Généralités sur les hémopathies malignes et les greffes de CSH	9
1. Greffes de cellules souches hématopoïétiques (CSH) :	9
a) Cellules souches hématopoïétiques	9
b) Définition de l'allogreffe et de l'autogreffe de CSH	9
c) Principes immunologiques de la greffe de CSH.....	10
(1) Système HLA et histocompatibilité.....	10
(2) Mécanisme de l'allo-réactivité :	11
(3) Conséquences de l'alloréactivité	11
(a) Effet recherché de l'allogreffe de CSH : Effet GVL	11
(b) Autres conséquences et « challenge » de l'allogreffe :	12
(4) Différents types d'allogreffe ¹³	13
(5) Déroulement de l'allogreffe	13
(6) Épidémiologie et évolution des indications de l'allogreffe.....	15
B. Complications de l'allogreffe	16
1. Complications infectieuses	16
a) Les infections bactériennes:.....	17
b) Les infections fongiques :	17
c) Les infections virales:	18
2. Complications immunologiques.....	18
a) Réaction du greffon contre l'hôte	18
b) Échec de la greffe : Non prise de la greffe.....	20
3. Autres complications :	21
C. Suivi des patients ayant bénéficiés d'une allogreffe de CSH	21
1. Suivi clinico-biologique	21
2. Électrophorèse et immunofixation des protéines sériques	23
a) Électrophorèse des protéines sériques (EPS)	23
(1) Définition et intérêt clinique	23
(2) Aspects techniques.....	23
(3) Interprétation des différents profils	24
b) Immunofixation des protéines sériques (IF).....	26
(1) Définition et intérêt clinique	26
(2) Aspects techniques.....	26
(3) Interprétation des différents profils	26
c) Définition d'une EPS atypique	28
III. TRAVAUX PERSONNELS	29

A. Rationnel et objectifs de l'étude :	29
B. Matériels et méthode	29
1. Conception de l'étude et caractéristiques cliniques	29
2. Électrophorèses et immunofixations des protéines sériques	30
3. Réactivations virales	30
4. Autorisation institutionnelle	31
5. Analyse statistique	31
C. Résultats	32
1. Incidence des EPS atypiques et corrélation avec les caractéristiques cliniques	32
2. Corrélation entre les réactivations virales et l'apparition des profils d'EPS atypiques.....	34
3. Corrélation entre GVHD et l'apparition d'une EPS atypique.....	35
4. Facteurs étiologiques liés à l'apparition d'EPS atypique.....	36
5. Impact des profils d'EPS atypiques sur le délai de rechute.....	37
6. Impact des profils d'EPS atypiques sur la survie globale.....	37
 IV. DISCUSSION ET CONCLUSIONS	 40
 V. BIBLIOGRAPHIE	 43
 ANNEXE 1 : PUBLICATION ISSUE DE CE PROJET	 47
 ANNEXE 2 : CONDITIONNEMENTS DE L'ALLOGREFFE (SOURCE CHU AMIENS)	 53
 ANNEXE 3: INDICATIONS DE L'ALLOGREFFE (SOURCE CHU AMIENS) :	 54

I. Introduction :

L'allogreffe fait partie intégrante du traitement curatif de patients atteints d'hémopathies malignes et non malignes. Elle a permis d'améliorer considérablement le pronostic de ces patients atteints d'hémopathie. Elle est toutefois associée à une morbidité et une mortalité importante.

La survenue de profils électrophorétiques atypiques (des pics monoclonaux ou oligoclonaux dans les gammaglobulines) a été récemment constatée chez des patients allogreffés. Leur signification, de même que leur origine, restent pour le moment indéterminées. Ces profils électrophorétiques « atypiques » (PEA) ont rarement été décrits dans la littérature

A notre connaissance, l'incidence, l'étiologie et l'impact pronostique en termes de rechute et de mortalité de ces PEA n'ont encore jamais été étudiés. L'objectif de notre étude est d'évaluer rétrospectivement ces paramètres chez les patients atteints d'une hémopathie myéloïde et ayant bénéficié d'une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. Cette étude a inclus 117 patients atteints d'une hémopathie myéloïde et ayant reçu une allo-HSCT entre 2012 et 2018 au CHU d'Amiens.

Nos résultats, détaillés au sein de ce manuscrit, montrent que l'apparition de ces profils atypiques pourrait être liée à la maladie du greffon contre l'hôte (GVHD), ainsi qu'à la réactivation du CMV (Cytomégalo virus). De manière intéressante, ces profils semblent corrélés à une évolution clinique favorable, avec notamment des délais de rechute allongés et une amélioration de la survie globale chez ces patients.

La présence de composants monoclonaux ou oligoclonaux sur l'EPS, après une allo-HSCT (*allo-hematopoietic stem-cell transplantation*), semble témoigner d'une réponse immunitaire post-greffe efficace. Celle-ci pourrait être liée à une expansion clonale anti-CMV à partir de cellules de donneur pré-immunisées, et/ou refléter à la fois l'activité GVHD et GVL (*Graft versus leukemia*), conduisant à des résultats favorables. Cette étude apporte aux cliniciens de nouvelles perspectives concernant l'interprétation des EPS, en montrant que les profils atypiques sont courants, bénins et associés à une amélioration du pronostic après une allo-HSCT.

II. Partie bibliographique

A. Généralités sur les hémopathies malignes et les greffes de CSH

Les hémopathies malignes désignent un ensemble hétérogène de néoplasies développées à partir des cellules hématopoïétiques. Elles sont classées selon quatre lignées de différenciation : myéloïde, lymphoïde, histiocytaire/dendritique et mastocytaire^{1,2}. L'âge médian au diagnostic pour les hémopathies lymphoïdes et myéloïdes est de 58 ans et 69 ans respectivement³.

En 2018, le nombre de nouveaux cas d'hémopathies malignes en France métropolitaine est estimé à 45 000 (25 000 chez l'homme et 20 000 chez la femme), soit 12 % des nouveaux cas de cancer³. Dans ce travail, nous nous sommes plus précisément intéressés aux hémopathies de la lignée myéloïde qui représentent environ 33 % de l'ensemble des hémopathies malignes³.

La mortalité des hémopathies malignes reste élevée (14 000 décès en France en 2018, soit 9% des décès par cancer)⁴. Néanmoins, le pronostic des patients a pu être amélioré ces dernières décennies en partie par le recours à la transplantation (ou greffe) de cellules souches hématopoïétiques (CSH) (en anglais *Hematopoietic stem-cell transplantation* ou HSCT).

1. Greffes de cellules souches hématopoïétiques (CSH) :

a) Cellules souches hématopoïétiques

Les CSH médullaires sont des cellules immatures pluripotentes permettant le renouvellement de l'ensemble des éléments sanguins. Ces cellules expriment à leur surface une protéine CD34 qui leur est spécifique. Elles ont la capacité, dans certaines circonstances, de migrer de la moelle osseuse (MO) vers le sang. On les appellera ainsi « cellules souches périphériques (CSP) ». Ainsi, pour une greffe, les CSH peuvent donc provenir de la moelle osseuse, du sang périphérique ou du sang placentaire⁵.

b) Définition de l'allogreffe et de l'autogreffe de CSH

L'autogreffe est un type de greffe au cours duquel les patients atteints d'une hémopathie reçoivent leurs propres cellules souches hématopoïétiques périphériques (exceptionnellement leur propre moelle osseuse) collectées pendant la rémission complète ou partielle et après une chimiothérapie intensive.

L'allogreffe est une greffe où le donneur et le receveur sont deux individus différents, et ne sont pas des jumeaux homozygotes (à la différence de la greffe syngénique). L'efficacité de ce type de greffe est liée avant tout à l'effet du greffon contre la tumeur GVL (*En anglais Graft Versus Leukemia*) et au conditionnement anti-tumoral à base de chimiothérapie et/ou radiothérapie^{5,6}.

c) Principes immunologiques de la greffe de CSH

(1) Système HLA et histocompatibilité

Chez la plupart des vertébrés, la reconnaissance du soi et la tolérance immunitaire sont assurées par le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) (appelé aussi le système HLA (*Human Leukocyte Antigen*)). On distingue les CMH de classe I (CMH I) présents à la surface de toutes les cellules nucléées et les CMH de classe II (CMH II) présents uniquement à la surface des cellules présentatrices de l'antigène (CPA) dites « professionnelles », à savoir les monocytes/macrophages, les lymphocytes B (Lc B) et les cellules dendritiques. Le CMH I et le CMH II ont pour principale fonction de présenter les antigènes peptidiques aux lymphocytes T (Lc T) CD8⁺ et CD4⁺ respectivement pouvant conduire à l'activation du système immunitaire adaptatif en cas de reconnaissance du non-soi ou du soi modifié (Figure 1)⁷.

Le complexe génétique HLA est situé sur le bras court du chromosome 6 et se caractérise par un polymorphisme allélique très élevé ⁷. En déterminant « l'identité immunologique » d'un individu, le système HLA conditionne le succès (histocompatibilité) des greffes aussi bien d'organes solides que de CSH. Dans le cadre des allogreffes, le choix du donneur se fait sur des critères d'histocompatibilité stricts incluant la recherche d'une identité CMH 10/10 (HLA-A*, B*, C*, DRB1*, DQB1*) entre le donneur et le receveur^{7,8}.

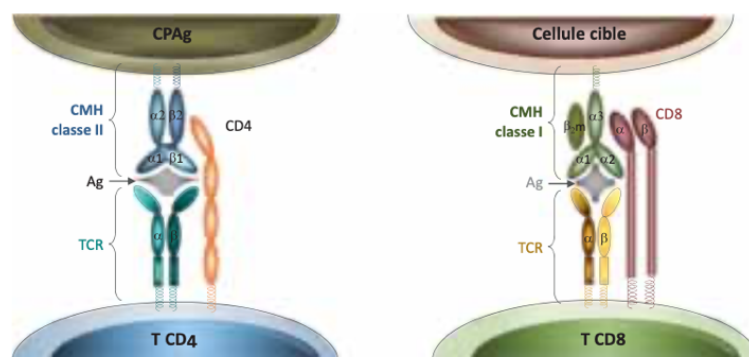
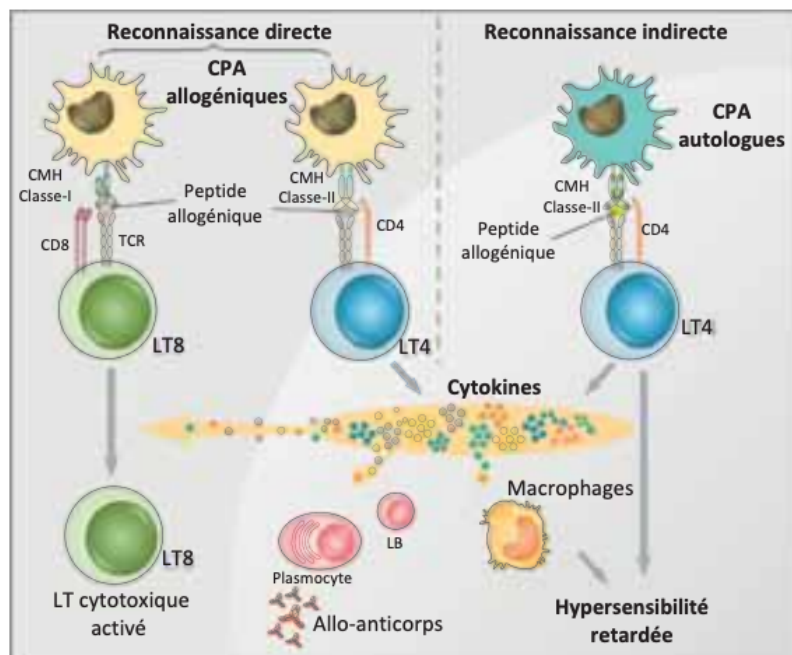


Figure 1: Interaction entre TCR et complexe HLA-antigène⁷

(2) Mécanisme de l'allo-réactivité :

Lors d'une greffe entre deux individus de la même espèce avec des différences immunologiques et génétique, les Lc T (du receveur ou du donneur) vont interagir avec les CPA (du receveur ou du donneur) et reconnaître à leur surface le complexe HLA-peptide de classe I et II qu'elles expriment. Les différences antigéniques sont à l'origine d'une réactivité allogénique ou « alloréactivité » bidirectionnelle. On distingue l'alloréactivité directe qui implique les CPA du donneur et les Lc T du receveur, l'alloréactivité indirecte qui implique les lymphocytes T alloréactifs qui reconnaissent directement le complexe CMH-allo-antigène présents sur les CPA du donneur (*Figure 2*)⁹.



*Figure 2 : Mécanismes de l'alloréactivité (directe et indirecte)*⁷

(3) Conséquences de l'alloréactivité

(a) Effet recherché de l'allogreffe de CSH : Effet GVL

La réaction du greffon contre la leucémie (ou contre la tumeur) (En anglais *Graft Versus Leukemia GVL* ou *Graft Versus Tumor GVT*) est définie comme une réaction immunologique des lymphocytes T du greffon contre les cellules tumorales du receveur. Cet effet GVL représente une puissante immunothérapie anti-tumorale et justifie à elle seule le recours à l'allogreffe pour la prise en charge de certaines hémopathies malignes¹⁰. L'efficacité des allo-HSCT est liée à l'effet GVL qui est principalement médié par les cellules T alloréactives et/ou les cellules tueuses naturelles (NK) dérivées du donneur (*Figure 3*).

(b) Autres conséquences et « challenge » de l'allogreffe :

Ces réactions immunitaires sont à l'origine de l'immunothérapie anti-tumorale recherchée GVL. Elles sont également responsables de la prise de greffe en potentialisant l'hématopoïèse, de la reconstitution de l'immunité anti-infectieuse (*Graft versus Infections* GVI). Cependant, ces effets ne sont pas sans conséquences délétères pour le receveur. En effet, ces mêmes réactions immunologiques peuvent également être responsables de l'échec de la greffe, de la réaction du greffon contre l'hôte GVHD. Le challenge est de préserver cet effet puissant anti-tumoral tout en réduisant au maximum le rejet et l'effet GVHD pour permettre une thérapie plus efficace contre les hémopathies malignes. (Figure 3). De nombreuses stratégies cliniques notamment la sélection des donneurs, le processus de l'allogreffe, l'injection de lymphocytes du donneur, la déplétion lymphocytaire du greffon et les agents pharmacologiques ont été établies dans le but minimiser l'effet GVHD et maintenir l'effet GVL^{11,12}.

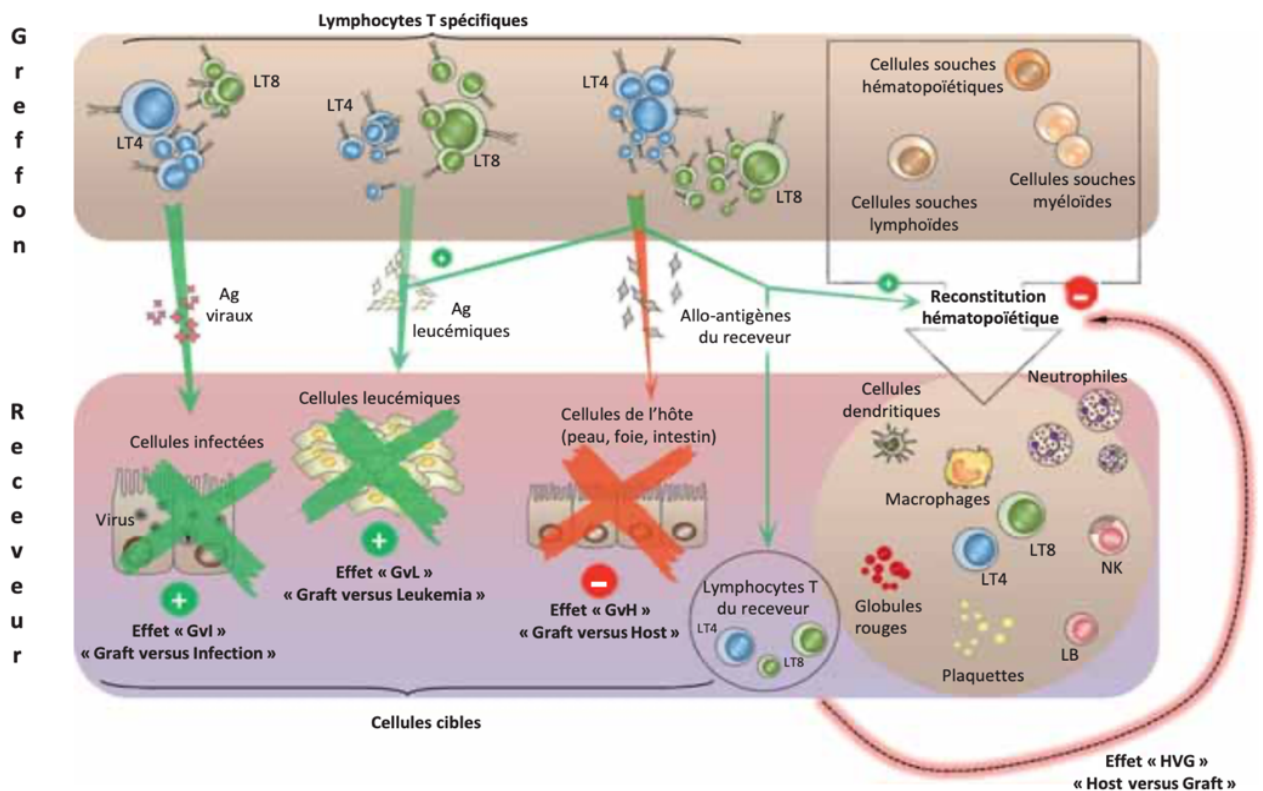


Figure 3 : Conséquences de l'alloréactivité des lymphocytes suite à une allogreffe de CSH⁷

(4) Différents types d'allogreffe¹³

Nous distinguons trois types d'allogreffe selon le degré de parenté et d'histocompatibilité :

- La greffe génoidentique : le donneur est parent de premier degré (frère ou sœur) ayant deux haplotypes HLA identiques à celui du receveur (compatibilité HLA 10/10).
- Le donneur phénoïdentique : le donneur est un volontaire inscrit sur le fichier (qui partage avec le receveur deux haplotypes HLA (compatibilité 10/10).
- Le donneur haploïdentique est un donneur (parent ou non) qui partage avec le receveur un seul haplotype HLA commun (compatibilité HLA 5/10).

Depuis 2015, Nous pouvons observer une augmentation constante des allogreffes haplo-identiques et une nette diminution des greffes géno-identiques. Cette baisse est à rapporter au vieillissement des patients et donc de leur fratrie au sein de laquelle les contre-indications au don sont plus fréquentes. Dans ce cas, un donneur alternatif de type haploïdentique, souvent jeune, est le plus souvent choisi (Figure 4)¹⁴.

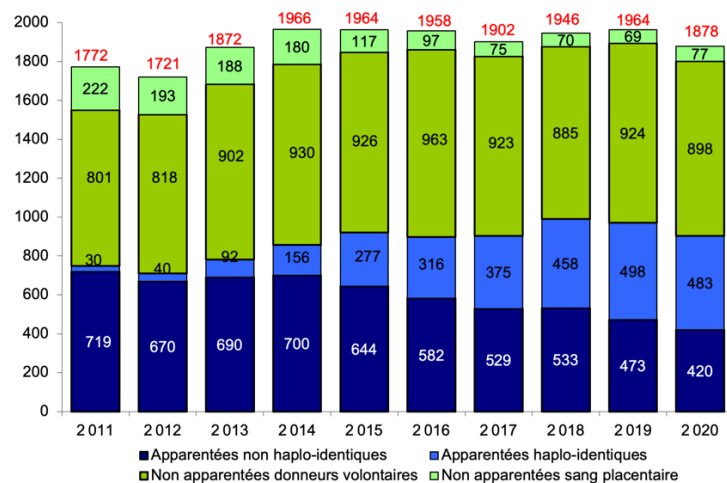


Figure 4 : : Évolution du nombre d'allogreffes de CSH selon le type de donneur CSH¹⁴

(5) Déroulement de l'allogreffe

Depuis 2011, les CSH pour une allogreffe sont le plus souvent prélevées à partir du sang périphérique (Figure 5)¹⁴. En effet, les CSH du donneur sont mobilisées de la moelle osseuse vers le sang périphérique grâce à l'injection de facteur de stimulation des colonies de granulocytes (*En Anglais granulocyte colony- stimulating factor ou G-CSF*). Ces CSP sont ensuite collectées grâce à un système automatisé séparateur de composants sanguins « la cytophèrese ». Le greffon est ensuite cryo-conservé à l'état solide en attendant la greffe¹⁵.

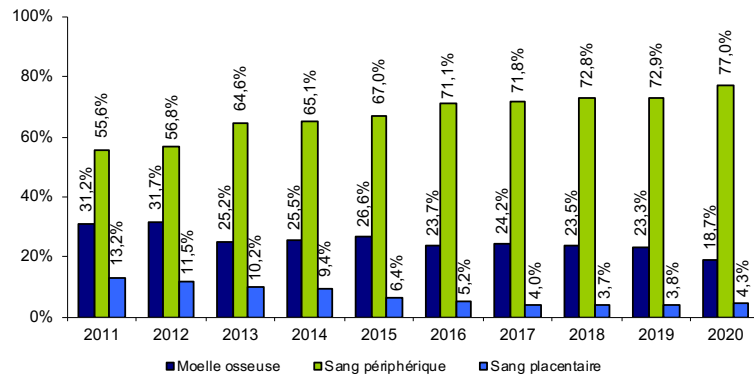


Figure 5 : Évolution de la répartition des sources de greffon de CSH allogénique¹⁴

Dans un premier temps, le patient reçoit un traitement dit « de conditionnement » qui associe une polychimiothérapie et/ou une radiothérapie dans le but d'induire un effet anti-tumoral afin de permettre une immunosuppression suffisante et de prévenir les réactions allogéniques (rejet, GVHD). Nous distinguons principalement quatre types de conditionnement: myéloablatif, non myéloablatif, d'intensité réduite ou de toxicité réduite¹⁶.

Le choix de conditionnement dépend de l'indication de greffe, de l'âge du receveur, du type de greffon et du donneur, et des habitudes de chaque centre¹⁶. Les protocoles utilisés au CHU d'Amiens sont détaillés dans l'annexe 1.

L'injection de greffon préalablement recueilli se fait par une simple transfusion intraveineuse. Après la greffe, le receveur devra résister à l'aplasie médullaire et aux complications qu'elle implique. Il bénéficiera d'un traitement préventif immunosuppresseur et anti-infectieux pendant une période variable qui dépend du type de greffe et de l'état général du patient⁶ (Figure 6).

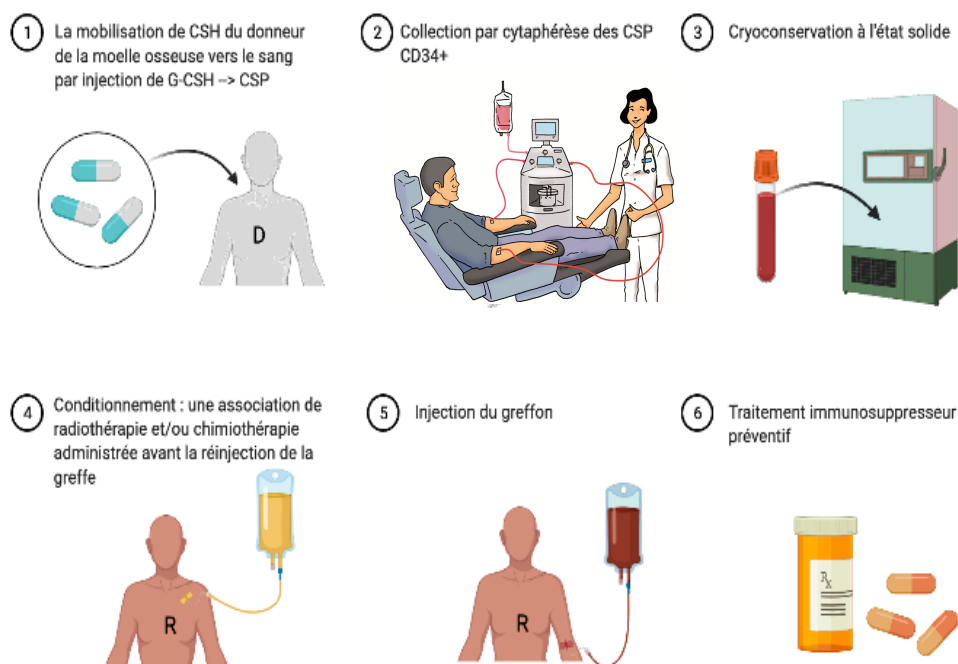


Figure 6 : Déroulement de l'allogreffe de CSP. Figure réalisée à partir de BioRender

(6) Épidémiologie et évolution des indications de l'allogreffe

En 2020, 1878 allogreffes de CSH ont été réalisées en France métropolitaine¹⁴. L'activité d'allogreffe (tout type confondu) au CHU d'Amiens est constante depuis 2016 avec une moyenne de 43 allogreffes par an (Figure 8).

Les indications d'allogreffe sont globalement identiques depuis de nombreuses années, que le donneur soit apparenté ou non. Les hémopathies malignes représentent 90% des indications d'allogreffe. En 2020 en France, les quatre principales indications d'allogreffe étaient la leucémie aiguë myéloïde (LAM) (44%), la leucémie aiguë lymphoïde (LAL) (12,8 %), la myélodysplasie (12,4 %) et les lymphomes non hodgkiniens (LNH) (5,6%) (Figures 9 et 10). Les maladies non malignes, principalement l'aplasie médullaire et les maladies constitutionnelles, représentent 10 % des allogreffes (Figure 7)¹⁷. Les indications détaillées de l'allogreffe pratiquée au CHU d'Amiens sont listées en annexe 2.

Depuis des années, l'allogreffe était réservée aux patients jeunes¹⁴ (en moyenne avant 45 ans) sans comorbidité pouvant supporter les complications liées aux traitements à base de chimiothérapie et/ou radiothérapie, les longues périodes d'aplasie et les complications qu'elle engendre. Cependant, l'amélioration des techniques de prise en charge et des protocoles de conditionnement ont permis l'élargissement des indications à des patients plus âgés. A noter que l'âge moyen des patients allogreffés était de 46 ans en 2020 contre 41 ans en 2012. De plus, 52,7 % des patients allogreffés avaient plus de 55 ans en 2020 contre 40,1 % en 2012¹⁴.

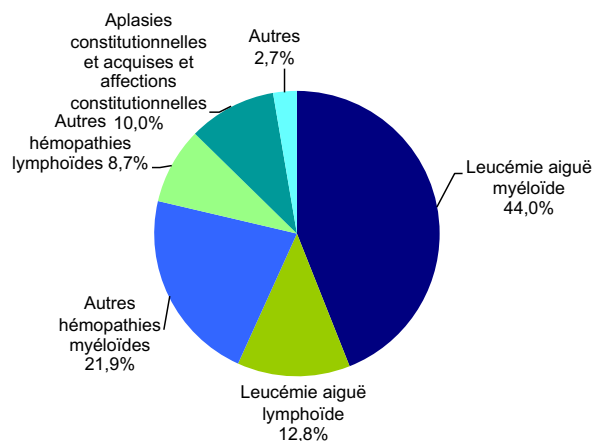


Figure 8 : Répartition des indications de l'allogreffe (France)¹

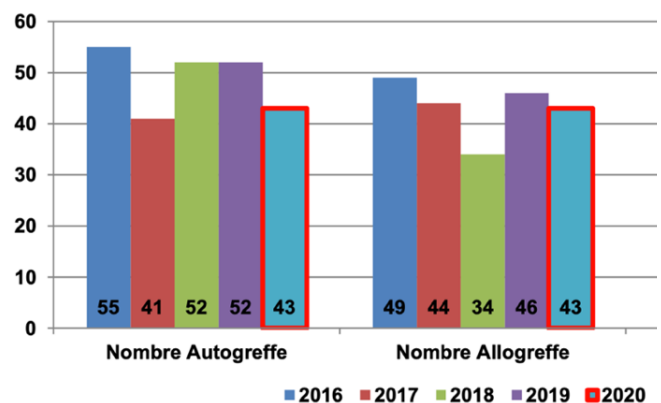


Figure 7 : Activité de greffe au CHU d'Amiens depuis 2016 (source : CHU Amiens)

B. Complications de l'allogreffe

1. Complications infectieuses

La survenue de complications infectieuses concerne 20 à 40 % des allogreffes¹⁸ de CSH avec une mortalité importante de 23,8%¹⁹. Le risque infectieux dépend des comorbidités antérieures, du type de conditionnement, de la durée et de la profondeur de l'aplasie.

Le conditionnement myélo-ablatif entraîne souvent une période plus ou moins profonde et prolongée (de quelques jours à quelques semaines) d'aplasie médullaire.

A noter également que 75% des patients allogreffés présentent des lésions de mucite orale et du tractus digestif secondaires aux chimiothérapies et majorées par la neutropénie qui les exposent à des complications infectieuses²⁰.

La restauration immunitaire est progressive après l'allogreffe (Figure 9) et varie ainsi selon le type de greffe, la source du donneur et le type de conditionnement utilisé.

Le risque infectieux et les agents pathogènes incriminés peuvent être divisés en trois phases selon le délai de survenue après l'allogreffe de CSH. La phase I est la phase de pré-greffe (entre 0 et 30 jours après l'HSCT), caractérisée par une neutropénie profonde et une rupture de la barrière muco-cutanée. La phase II, la phase de post-greffe (entre 30 et 100 jours après l'HSCT) est caractérisée par une altération de l'immunité à médiation cellulaire. La phase III, la phase tardive (>100 jours après l'HSCT) durant laquelle le risque relatif de ces infections est approximativement proportionnel à la gravité de la GVHD du patient pendant les phases II et III (figure 10)⁶.

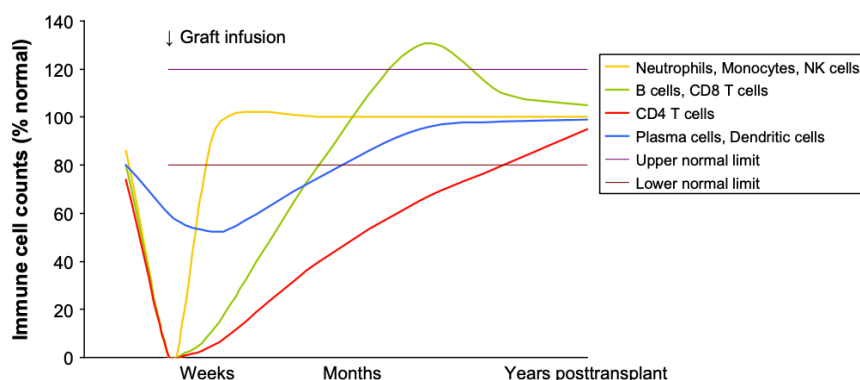


Figure 9 : Cinétique de la reconstitution immunitaire après une HSCT (Source : The EBMT Handbook 2019)

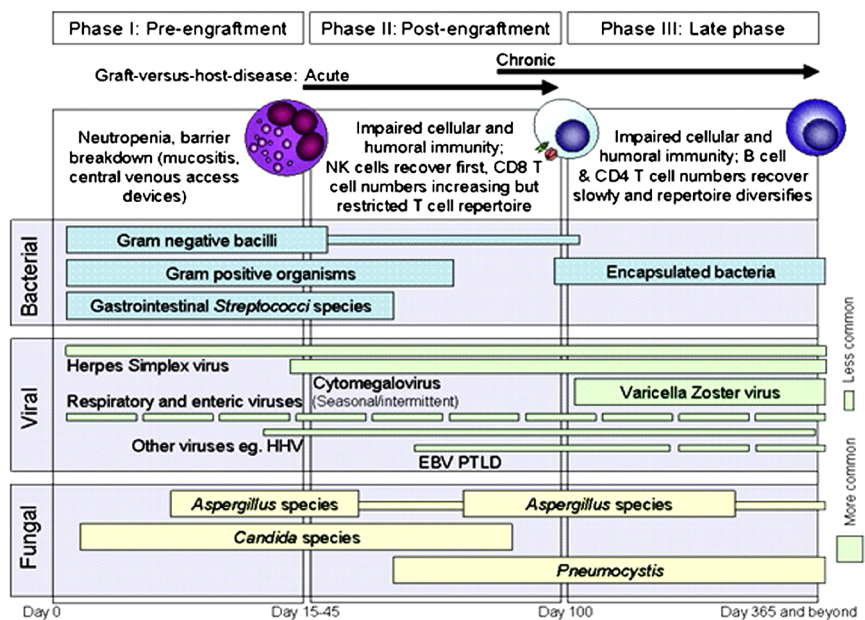


Figure 10 : Illustration chronologique du risque d'infectieux (source the EBMT Handbook 2019)

a) Les infections bactériennes:

Il s'agit le plus souvent de bactériémies (20 à 50% des allogreffes) qui entraînent le décès des patients dans 14,7% des cas¹⁹.

Elles surviennent principalement durant la phase I. Les germes les plus incriminés sont les *Staphylocoques à coagulase négative* (*Staphylocoque aureus*, *Staphylocoque epidemidis*, et *Streptocoque viridans*) et les bacilles Gram négatif (BGN) (*Escherichia coli*, *Pseudomonas spp* et *Klebsiella sp*)^{21,22}.

b) Les infections fongiques :

Les infections fongiques invasives (IFI) sont des complications infectieuses fréquentes de l'allogreffe qui peuvent survenir durant les trois phases. Leur incidence cumulée sur 12 mois peut atteindre jusque 6 à 10%²³ des allogreffes avec une mortalité de 10,6%¹⁹.

Les champignons les plus souvent incriminés sont par ordre de fréquence le *Candida* et l'*Aspergillus* mais également par ordre décroissant de fréquence le genre *Fusarium*, *Cryptococcus* et *Mucor*²⁴.

La prévalence des infections respiratoires à moisissures causées par l'espèce *Aspergillus* a augmenté ces dernières années, actuellement 93% des IFI, avec une mortalité imputable de l'ordre de 30%²⁵.

L'introduction de la prophylaxie antifongique au fluconazole a entraîné un changement épidémiologique, les infections à *Candida albicans* sensibles au fluconazole cédant la place à des infections à *Candida non albicans* principalement résistantes au fluconazole (y compris *Candida glabrata* et *Candida krusei*)⁶.

c) Les infections virales:

Les patients allogreffés sont également exposés aux infections virales *de novo* et aux réactivations virales. L'incidence des virémies (ADN viral détectable par PCR) est de 70% avec une mortalité de l'ordre de 9,2 %¹⁹.

Les virus les plus incriminés sont le HSV (incidence 80%)²⁶(*Herpes Simplex Virus*) et le HHV6 (*Humain Herpes Virus type 6*)(incidence 62,5%) durant la phase I, puis le CMV (Cytomegalovirus) (incidence 16-28%), l'EBV (*Epstein Barr Virus*) (incidence 0,1-63%), l'adénovirus (5-47%) et le VZV (*Varicelle Zona Virus*) (incidence 20,7%)²⁷ durant la phase II et la phase III²⁸

2. Complications immunologiques

a) Réaction du greffon contre l'hôte

Décrite pour la première fois par Billingham et *al.*, en 1966, la réaction du greffon contre l'hôte (appelée GVHD pour *graft-versus-host disease*) est considérée comme le versant néfaste de l'effet GVL. La physiopathologie commence par une activation des cellules présentatrices d'antigènes CPA de l'hôte suite aux lésions tissulaires provoquées principalement par le conditionnement. Les antigènes sont reconnus par les lymphocytes T du donneur, ce qui entraîne une allo-réactivation et une sécrétion de cytokines pro-inflammatoires responsables du recrutement des cellules effectrices de l'immunité, les neutrophiles et les macrophages provoquant ainsi des lésions tissulaires attribuables à l'effet GVHD^{29,30} (Figure 11).

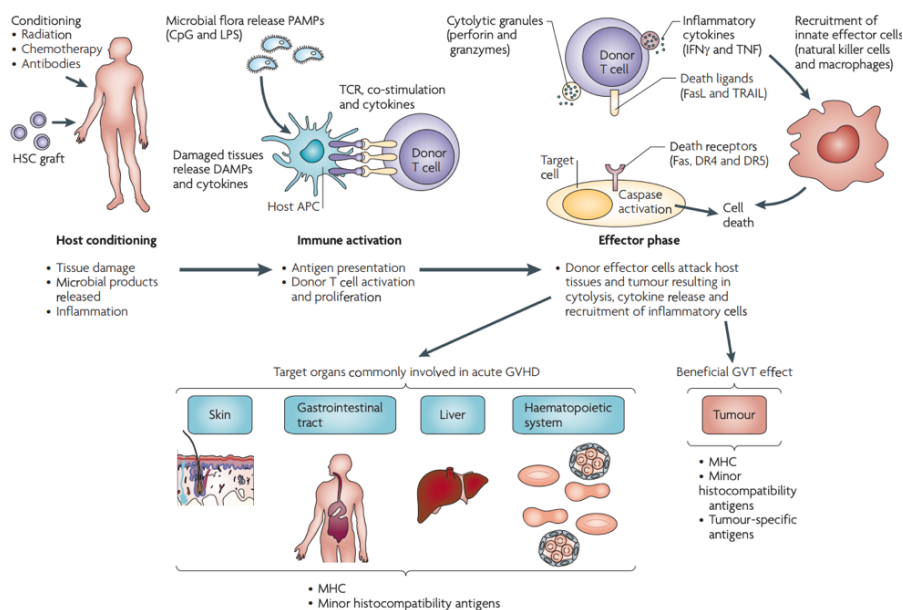


Figure 11 : Mécanismes immunologiques de la réaction du GVHD³¹.

La GVHD est responsable d'une mortalité de 15,9%¹⁹. Les principaux organes de l'hôte atteints sont la peau, le foie et le tube digestif. Sa fréquence et sa sévérité sont corrélées en outre au nombre de cellules immunocompétentes contenues dans le greffon, au degré de disparité des antigènes HLA entre le donneur et le receveur, au conditionnement myélo-ablatif et au degré d'immunodépression du patient, et de la prophylaxie anti-GVHD utilisée. Une compatibilité totale HLA n'empêche donc pas totalement la survenue de développer une GVHD³². La TRM (*Treatment related mortality*) est définie comme la mortalité liée soit à l'allogreffe ou à ses complications (tel que la GVHD) soit aux traitements antérieurs (tel que le conditionnement). Le taux de TRM à un an était de 17,7 % (entre 2012 et 2017) contre 19% (entre 2007 et 2011). L'âge, le CMV positif du receveur et tous les types de donneurs autres que génoïdétiques sont des facteurs augmentant significativement le risque de TRM³³.

Classiquement, Nous distinguons deux principales formes de GVHD selon une limite fixée à 100 jours post-allogreffe : la *forme aiguë* et la *forme chronique*. Pour être plus précis, depuis 2005, les critères de consensus *National Institutes of Health* (NIH) des États-Unis définissent également la *GVHD aiguë persistante, récurrente ou tardive* (en cas de signes apparaissant plus de 100 jours après la greffe sans signe de GVHD chronique) et le *syndrome de chevauchement* (les symptômes peuvent apparaître à tout moment après la greffe et sont caractéristiques à la fois de la GVHD chronique et de la GVHD aiguë)³⁴.

En pratique, les cliniciens s'appuient sur des critères cliniques, histologiques et immunologiques pour distinguer les différentes formes³⁵.

- GVHD aiguë

L'incidence de la GVHD aiguë est variable entre 26-32% dans les greffes géno-identiques et de 42-52 % dans les greffes non apparentées²⁶. Elle augmente avec l'âge du receveur, l'intensité du conditionnement, l'incompatibilité du sexe et les infections pré-greffe. La classification de Glücksberg définit différents grades (I à IV) de sévérité de la GVHD aiguë³⁶. Le pronostic de la GVHD aiguë est liée à sa sévérité. En effet, la survie à 5 ans est de 25% et 5% pour le stade III et IV respectivement. Elle affecte particulièrement trois organes (peau, foie et tube digestif). Des symptômes tels que les éruptions cutanées, la desquamation, la diarrhée, les douleurs abdominales ou un ictère peuvent évoquer une GVHD aiguë.

- GVHD chronique

Elle débute généralement entre 100 et 400 jours après la greffe avec une incidence de 53,7 %³⁷. La GVHD chronique peut apparaître de façon progressive dans la continuité d'une GVHD aiguë, après une GVHD aiguë guéri ou sans GVHD aiguë préalable.

Les manifestations cliniques sont polymorphes et peuvent être similaires à une maladie auto-immune. La sévérité de la GVHD chronique est liée aux infections secondaires qui majorent l'atteinte tissulaire, ou aux défaillances possibles des organes atteints. Les atteintes d'organe sont souvent cutanées (éruption cutanée) (65-80%), hépatiques (ictère) (40-73%), buccales (ulcères) (48-72 %), oculaires (sécheresse) (18-47%), gastro-intestinales (diarrhée, vomissement) (16-26%) pulmonaires (10-15%)^{6,38,39}. La mortalité de la GVHD chronique est estimée à 25%⁴⁰.

- Prévention et traitement

Le degré de mismatch HLA est l'élément qui détermine le plus l'apparition et la sévérité de la GVHD. En effet, le choix d'un donneur jeune compatible et du même sexe permet de réduire la disparité HLA et donc la sévérité de la GVHD³⁹.

La prophylaxie dépend de l'hémopathie initiale, du type de greffe et de la source du greffon mais principalement du type du conditionnement. Elle repose essentiellement sur l'utilisation systématique des immunosuppresseurs avant la greffe³⁹.

La déplétion du greffon en lymphocytes T est une nouvelle stratégie de plus en plus utilisée. Cependant, elle permettait de réduire l'incidence de la GVHD mais également de réduire l'effet thérapeutique liée à la GVL. Par conséquent, les risques de rejet et de rechute ont été majorés³⁹.

La prise en charge des GVHD dépend de sa sévérité, de l'organe touché. Elle repose sur l'utilisation de corticothérapie en première intention. D'autres thérapeutiques peuvent être utilisées lors des GVHD réfractaires tel que les anti-TNF alpha, les sérums anti-lymphocytaires ou encore la photo-chimiothérapie extracorporelle⁴¹.

b) Échec de la greffe : non-prise de la greffe

La non-prise de la greffe est une complication rare avec une incidence globale de 5,6% et une survie globale à 5 ans de 20%⁶. Nous distinguons la non-prise de greffe primaire, définie comme une réaction des cellules résiduelles du receveur contre le greffon⁴². Elle est objectivée par la réapparition d'un chimérisme majoritairement receveur-excédent 95%.

La non-prise de la greffe secondaire peut être la conséquence d'un échec de l'hématopoïèse d'origine toxique ou infectieuse. Elle est caractérisée par une neutropénie récurrente inférieure à 500/mm³ pendant au moins trois jours consécutifs en l'absence de toute autre cause de myélosuppression à distance de la greffe alors que cette numération s'était corrigée dans un premier temps⁴³.

3. Autres complications :

Après l'allogreffe de CSH, d'autres complications peuvent survenir de façon aigüe telles que la mucite (36-69%)^{44,20} et la maladie veino-occlusive (13%)⁴⁵. Les complications tardives sont principalement secondaires à la radiothérapie et au conditionnement, plus particulièrement la gonadotoxité⁴⁶ et les complications malignes solides (15% dans les 15 ans post-allogreffe de CSH)⁴⁷

C. Suivi des patients ayant bénéficié d'une allogreffe de CSH

1. Suivi clinico-biologique

Les patients allogreffés sont suivis à vie de façon systématique. Le suivi doit être adapté en fonction des facteurs de risque de complications (GVHD aiguë et/ou chronique présente ou passée), des traitements reçus avant la greffe. Il s'agit d'un suivi pluridisciplinaire qui comprend des examens biologiques, cliniques et de l'imagerie. Il évolue avec le délai depuis la greffe mais reste axé sur quatre éléments principaux : le risque de rechute, la réaction du GVHD, la prévention et le dépistage. Pendant les trois premiers mois, le patient bénéficie hebdomadairement d'une consultation à l'hôpital pour s'assurer qu'il n'y a pas de complications hématologiques, infectieuses, métaboliques, et pour rechercher une GVHD. L'évaluation globale est le plus souvent réalisée 100 jours après la HSCT pour évaluer la prise de greffe, la maladie sous-jacente, les complications précoces, la reconstitution immunitaire. Les examens réalisés de façon systématique et leur fréquence sont détaillés dans le Tableau 1. La fréquence de ces examens et les délais de réalisation de ces examens peuvent être changés en fonction de l'état général du patient, de l'évolution de la maladie et en fonction des protocoles de chaque centre^{6,48-50}.

Tableau 1: Suivi clinico-biologique des patients post allo-HSCT^{6,48-50}

Hospitalisation post-greffe ou ré-hospitalisation pour GVHD aigue	Quotidien			2 fois par semaine			Une fois par semaine		
	Biochimie	Hématologie	Infectieux	Biochimie	Hématologie	Infectieux	Biochimie	Hématologie	Infectieux
	Ionogramme Urée Créatinémie	NFS	Hémoculture Si corticothérapie	ASAT ALAT GGT PAL CRP Bilirubine Albumine		PCR CMV Antigène aspergillaire		TP, TCA Fibrinogène	ECBU PCR EBV PCR toxoplasmose Examen bactériologique des selles Recherche BMR
Ponctuellement ou sur point d'appel : Dosage immunoglobulines, EPS , PCR (ADV, HHV-6, VZV, HSV), examen parasitologie et virologiques des selles, aspiration nasopharyngée. Radiographie pulmonaire (une fois par semaine)									
Jusqu'à J100 post greffe	1 fois par semaine			Une fois par mois ou sur point d'appel			A J100		
	Biochimie	Hématologie	Infectieux	Biochimie	Hématologie	Infectieux	Biochimie	Hématologie	
	Ionogramme ASAT ALAT GGT PAL CRP albumine	NFS	PCR (CMV EBV toxoplasmose) Antigène aspergillaire	EPS	TP TCA Fg	PCR (ADV HHV-6) ECBC ECBU	Fer sérique Ferritinémie EPS Bilan lipidique et hormonal T4L T3L TSH	NFS Typage lymphocytaire Chimérisme	
							Évaluation de l'hémopathie sous-jacente Consultation ophtalmologique et gynécologique, ETT, EFR		
De J100 à J360	Mensuel			Trimestriel			A J360		
	Biochimie	Hématologie		Biochimie	Hématologie		Biochimie	Hématologie	
	Ionogramme Bilan hépatique CRP Albumine	NFS Bilan hémostase		EPS	Phénotypage lymphocytaire Évaluation de l'hémopathie sous-jacente		Ferritinémie T3L T4L TSH EPS, bilan lipidique et hormonal	NFS, Chimérisme	
							Évaluation de l'hémopathie sous-jacente Consultation ophtalmologique et gynécologique, ETT, EFR, radiographie pulmonaire.		
Après un an	Tous les 3, 6 ou 12 mois selon le délai et la pathologie NFS, bilan biochimique avec EPS , bilan lipidique, bilan hémostase Évaluation de la maladie sous-jacente Interrogatoire à la recherche de symptômes de complications tardives Tous les 24 mois : bilan thyroïdien. Radiographie pulmonaire								

Légendes : NFS Numération formule sanguine. ASAT Aspartate-Amino-Transférase ALAT Alanine aminotransférase GGT Gamma-glutamyl transférase PAL Phosphatase alcaline CRP protéine C réactive PCR Polymerase chain reaction CMV Cytomégalo virus TP Temps prothrombine TCA Temps de céphaline activé ECU Examen cytobactériologique des urines EBV Epstein Barr virus BMR ADV Adénovirus HHV6 Fg Fibrinogène T4L Thyroxine libre T3L Triiodothyronine libre TSH Thyroid Stimulating Hormone ETT Echocardiographie Trans-Thoracique EFR Exploration fonctionnelle respiratoire ECBC Examen cytobactériologique des crachats

2. **Électrophorèse et immunofixation des protéines sériques**

a) **Électrophorèse des protéines sériques (EPS)**

(1) Définition et intérêt clinique

L'électrophorèse des protéines sériques (EPS) est un examen biologique simple, peu coûteux et fréquemment réalisé en routine. Il permet une appréciation quantitative mais également qualitative (sur l'aspect du tracé) des principaux composants protéiques du sérum. Il permet notamment le diagnostic et le suivi de nombreuses pathologies telles que les gammopathies monoclonales, les syndromes inflammatoires, les désordres physiologiques et nutritionnels, la cirrhose, ou encore le syndrome néphrotique.

L'EPS est un examen indispensable pour le diagnostic et le suivi des gammopathies monoclonales. Il permet également d'orienter vers les examens complémentaires nécessaires à leur diagnostic ou leur suivi, notamment le typage d'immunoglobulines monoclonales par immunofixation, le dosage spécifique de protéines (Albumine, Immunoglobulines A, G, M ...), la recherche de chaînes légères libres ou de cryoglobulines^{51,52}.

(2) Aspects techniques

Les différentes protéines sériques sont séparées en 6 fractions, sur gel ou sur capillaire, en fonction de leur poids et de leur charge par migration différentielle sous l'action d'un champ électrique. Elle permet donc de séparer les molécules chargées contenues dans un mélange en fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques propres (point isoélectrique, mobilité électrophorétique, taille, masse) et des caractéristiques du milieu dans lequel se déroule la séparation (solide ou liquide, pH, force ionique, électroendosmose). Il existe deux grandes techniques électrophorétiques adaptées aux pratiques du laboratoire de biologie médicale; EPS sur gel d'agarose et l'EPS en veine liquide au sein d'un capillaire de silice fondue.

Au laboratoire de biochimie du CHU d'Amiens, la séparation des protéines sériques se fait par électrophorèse capillaire de zone en veine liquide en milieu basique (pH 9.9), sous haut voltage (7000 volts), sur le système automatisé Capillarys® (Sébia). Le haut voltage génère un fort courant d'électroendosmose qui entraîne les protéines de l'anode vers la cathode, en sens inverse du champ électrique.

Les protéines séparées au cours de leur migration sont détectées directement en sortie du capillaire, en spectrophotométrie d'absorbance à 200 nm par une cellule de lecture comportant une lampe au deutérium et un filtre UV 200 nm (Figure12)^{52,53}.

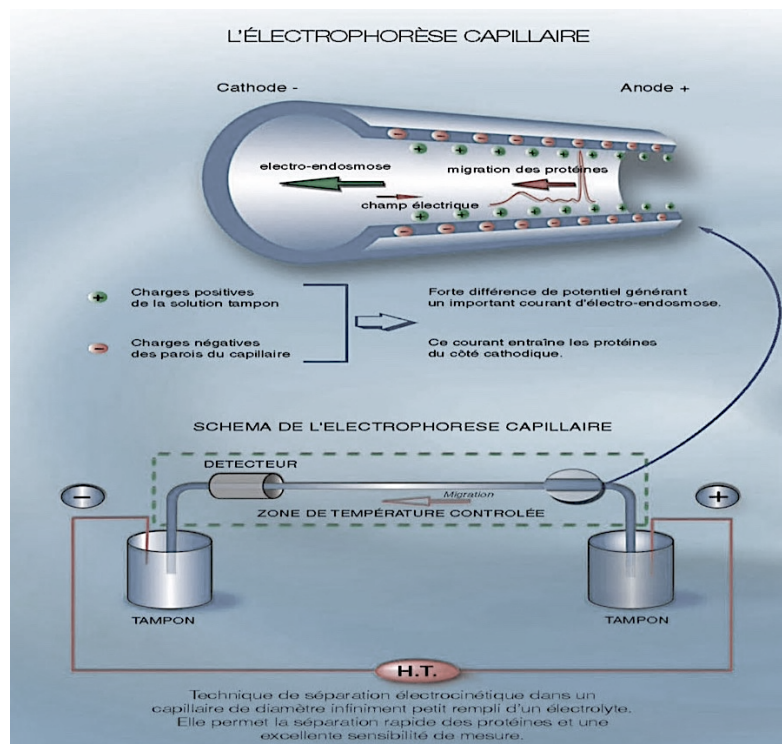


Figure 12 : Principe de l'électrophorèse capillaire (Source : Sébia)

(3) Interprétation des différents profils

Le profil électrophorétique ou protéinogramme obtenu révèle six fractions de mobilité électrophorétique différente : albumine, α_1 -globulines, α_2 -globulines, β_1 -globulines, β_2 -globulines, γ -globulines. (Figure 13). Le dosage de la protidémie totale est toujours associé à l'électrophorèse, permettant l'expression en valeurs relatives (%) et absolues (g/L) des différentes fractions.

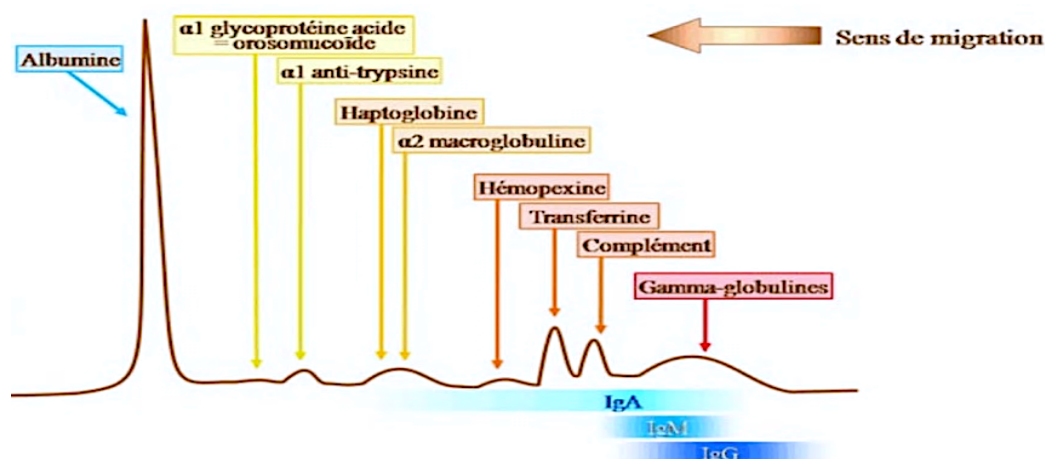


Figure 13 : Protéinogramme ou profil électrophorétique normal.

Les principales variations (quantitatives et qualitatives) pathologiques des différentes fractions sont listées dans le tableau 1 et représentées dans la figure 14^{51,54}.

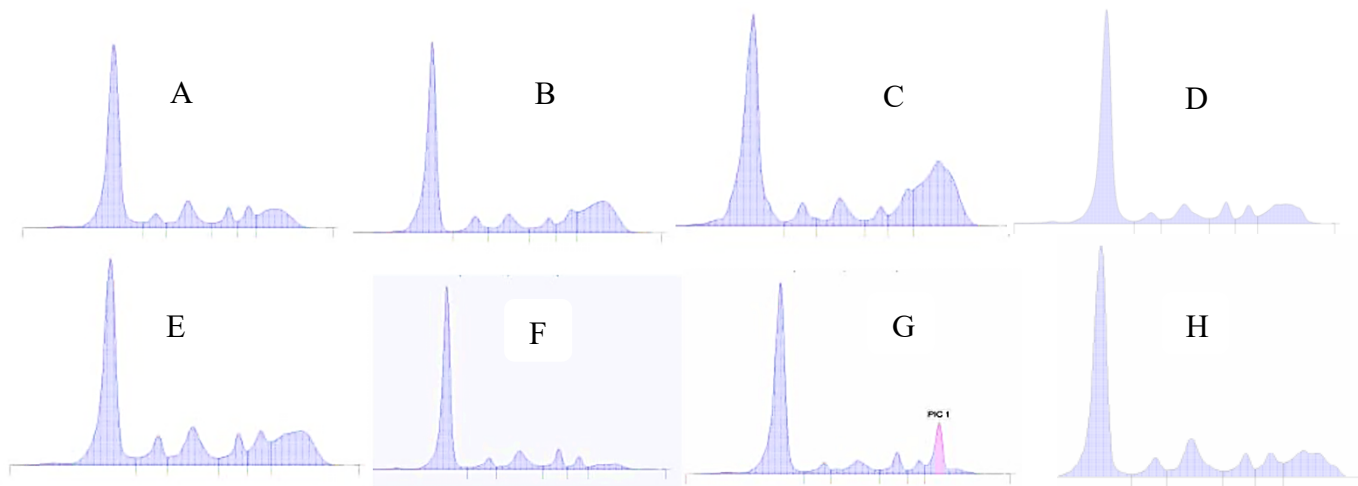


Figure 14 : Exemples de tracés électrophorétiques. (A) Tracé normal (B) Augmentation polyclonale des gammaglobulines (C) Présence d'un bloc beta gamma (D) Présence d'une fraction homogène dans la zone des gammaglobulines (E) Tracé pouvant évoquer un syndrome inflammatoire (F) Hypogammaglobulinémie (G) Profil monoclonal (H) Profil oligoclonal

Tableau 1 : Résumé des variations (quantitatives) pathologiques des différentes fractions⁵⁵⁻⁵⁷.

	Protéines totales	Albumine	α 1globulines	α 2globulines	β globulines	γ globulines
Inflammation aiguë		↓ ou N	↑	↑		↓ ou N
Hépatite sévère	↓ ou N	↓↓	↓	↓	↓	↓
Cirrhose décompensée	↓ ou N ou ↑	↓↓		↓	↓	↓
Cirrhose compensée					Bloc bêta-gamma	
Syndrome néphrotique	↓↓	↓↓		↑↑		↓ ou N
Hypo-gammaglobulinémie						↓↓↓
Gammapathie monoclonale	N ou ↑	↓	↓	↓	Pic homogène	
Hyper-gammaglobulinémie	N ou ↑	↓				↑
Déperdition protéique	↓↓	↓↓	N ou ↑	N ou ↑	↓	↓ ou N ou ↑
Déficit en A ₁ AT			↓			
Anémies ferriprives					↑ de la transferrine	

b) Immunofixation des protéines sériques (IF)

(1) Définition et intérêt clinique

Les immunoglobulines monoclonales (IM) constituent une population homogène d'immunoglobulines produites en quantité anormale par un seul clone plasmocytaire⁵⁸⁻⁶⁰. Elles sont caractérisées par une seule classe de chaîne lourde, un seul isotype de chaîne légère. Les IM peuvent être retrouvées en dehors de toute pathologie maligne notamment dans les infections et les pathologies inflammatoires^{61,62}.

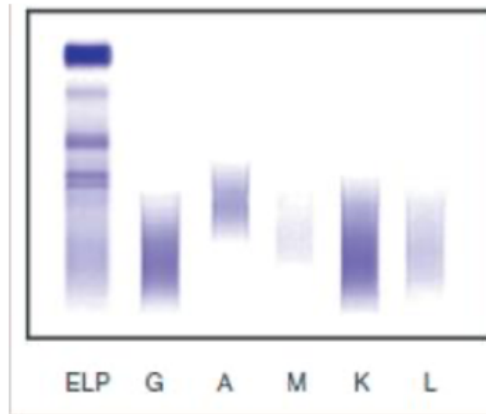
L'immunofixation (IF) des protéines sériques est une technique qualitative et sensible permettant l'identification et le typage d'une IM dans le sérum ou les urines. L'immunofixation est un examen indispensable au diagnostic et au suivi des gammopathies monoclonales. L'association EPS et IF a une sensibilité de 97,4 % pour détecter les gammopathies monoclonales (amylose, myélome multiple, maladie de Waldenström, gammopathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS), POEMS, plasmocytome, maladie de dépôt des chaînes légères)^{60,63}.

(2) Aspects techniques

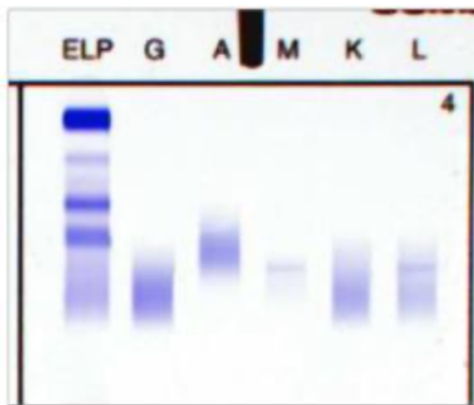
L'immunofixation est une technique qualitative d'immunoprécipitation en gel permettant la détection et le typage d'une immunoglobuline monoclonale dans le sérum. Sur les gels sont prédéfinies des pistes de migration électrophorétiques sur lesquelles sont déposés les échantillons plus ou moins dilués. Après séparation électrophorétique des constituants du sérum, les différentes pistes sont incubées en présence d'antisérums spécifiques permettant la précipitation *in situ* des immunoglobulines. L'immunoglobuline monoclonale, lorsqu'elle est présente, est immunoprécipitée dans le gel. Après lavage, les immunoglobulines précipitées sont révélées par un colorant des protéines (violet acide)⁶⁴.

(3) Interprétation des différents profils

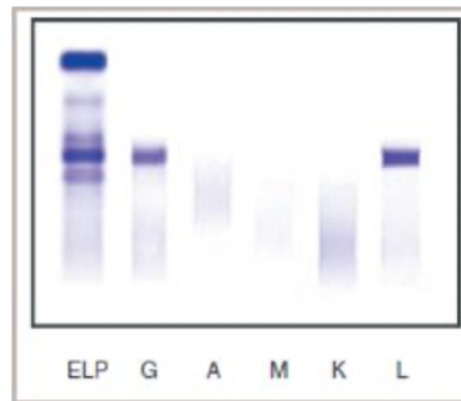
L'interprétation des résultats est effectuée après examen visuel des gels. La présence d'une bande étroite au même niveau de migration avec un sérum anti-chaîne lourde et un sérum anti-chaîne légère caractérise la présence d'une IM. Cette bande étroite est également retrouvée sur la première piste témoin d'électrophorèse. Un profil oligoclonal se caractérise par une fraction des gammaglobulines où s'individualise une succession de pics bien différenciés à l'EPS et par la présence de bandes bien différenciées dans la zone des gammaglobulines à l'IF (Figure 15).



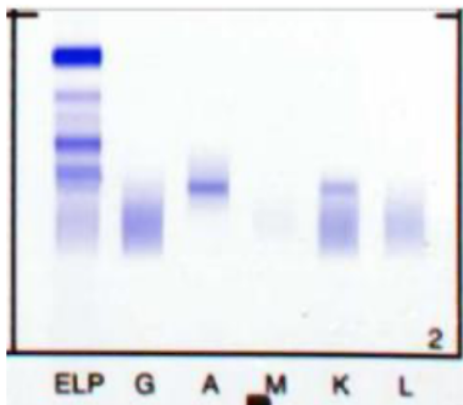
Absence d'Immunoglobulines monoclonales



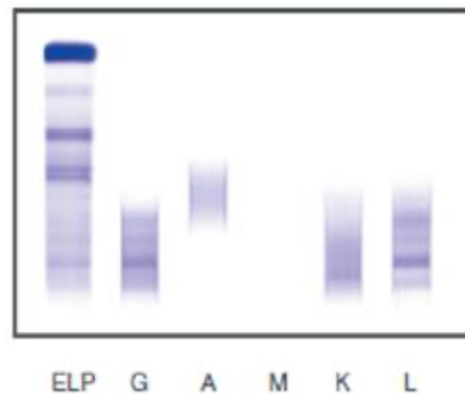
Présence d'Ig monoclonale Ig M Lambda



Dysglobulinémie monoclonale IgG Lambda



Dysglobulinémie monoclonale IgA Kappa



Profil oligoclonal portant sur les IgG, Kappa, Lambda

Figure 15 : Exemple de résultats d'immunofixation des protéines sériques.

c) Définition d'une EPS atypique

Dans l'immense majorité des cas, les profils électrophorétiques, ainsi que les profils d'IF coïncident avec la clinique. Par exemple, une hypogammaglobulinémie est retrouvée chez des patients immunodéprimés, ou la présence d'un pic monoclonal est observée chez des patients atteints de gammopathie monoclonale. Cependant, il arrive que des anomalies à l'EPS et/ou à l'IF soient observées par les biologistes, sans aucune explication clinique corrélée. C'est le cas chez certains patients allogreffés. Ainsi, un profil dit atypique est défini comme un tracé électrophorétique comportant un ou plusieurs pics d'aspect monoclonal ou oligoclonal, confirmé par l'IF sérique. Trois exemples de ces profils atypiques chez des patients allogreffés sont illustrés dans la figure 16.

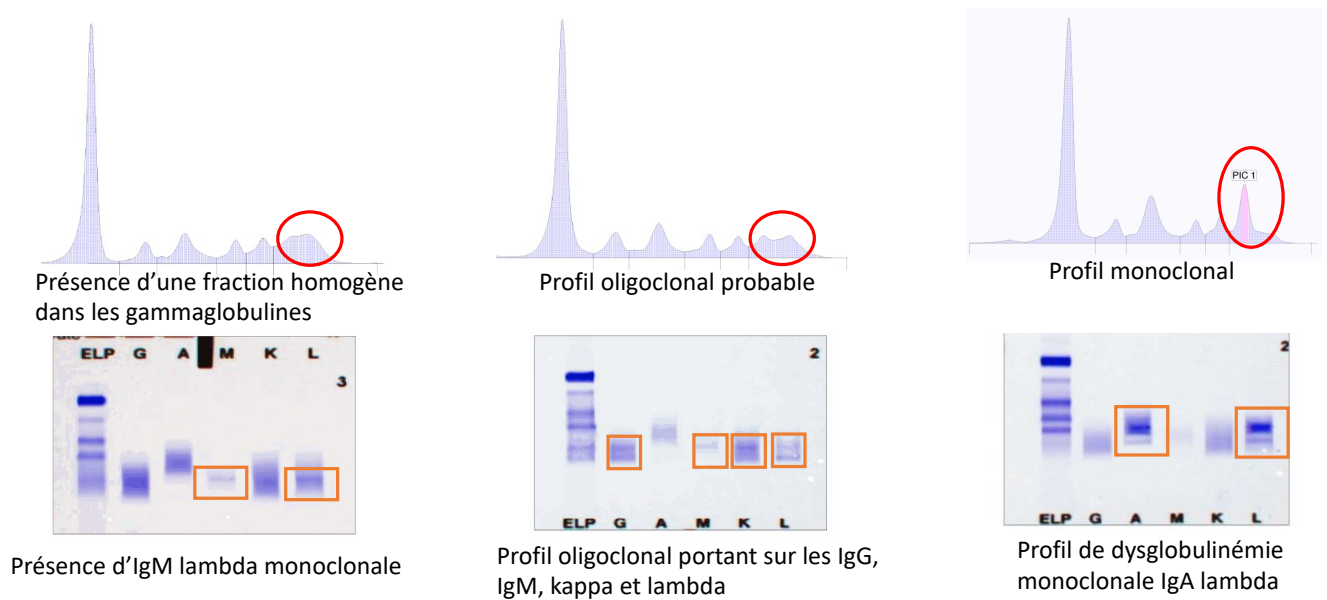


Figure 16 : Exemples de profils électrophorétiques atypiques chez des patients allogreffés.

III. Travaux personnels

A. Rationnel et objectifs de l'étude :

L'allogreffe de CSH (allo-HSCT) est le type de greffe de CSH le plus pratiqué en 2020 avec environ 2000 allo-HSCT par an en France. Les marqueurs prédictifs précoces de la réussite de la greffe, de son échec ou de l'apparition d'éventuelles complications sont peu nombreux.

L'EPS fait partie intégrante du bilan biologique de suivi systématique des patients allogreffés, dans le but d'apprécier la reconstitution immunitaire et de dépister une éventuelle hypogammaglobulinémie.

De manière intéressante, l'apparition d'un profil électrophorétique atypique chez certains patients ayant reçu une allogreffe de CSH a été fréquemment observé dans le laboratoire de Biochimie du CHU d'Amiens.

Il existe très peu de données dans la littérature traitant ce sujet. A notre connaissance, l'incidence, l'étiologie et l'impact pronostique en termes de rechute et de mortalité de ces profils atypiques n'ont encore jamais été étudiés. L'objectif de notre étude est d'évaluer ces paramètres chez 117 patients atteints d'une hémopathie myéloïde et ayant bénéficié d'une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques entre 2012 et 2018.

B. Matériels et méthode

1. Conception de l'étude et caractéristiques cliniques

Tous les patients adultes (≥ 18 ans) atteints d'une hémopathie myéloïde qui ont reçu une allo-HSCT au CHU d'Amiens-Picardie entre le 01/01/2012 et le 31/12/2018 ont été inclus rétrospectivement dans notre étude. Les patients atteints d'hémopathies malignes lymphoïdes ou de myélome multiple ont été exclus en raison de la fréquence élevée des composants monoclonaux associés à la maladie sous-jacente. Les patients présentant une électrophorèse atypique avant la transplantation ont également été exclus. Les patients décédés dans les 100 jours suivant la transplantation ont été exclus de l'étude afin d'éviter le biais associé à la TRM. Pour tous les patients inclus, les données biologiques ont été extraites de notre système de gestion de laboratoire (DxLab Software, Medasys,). Les données cliniques ont été obtenues à partir du logiciel de prescription médicale (DxCare Software, Medasys,.) et des observations cliniques. La méthodologie de l'étude est résumée en Figure 17.

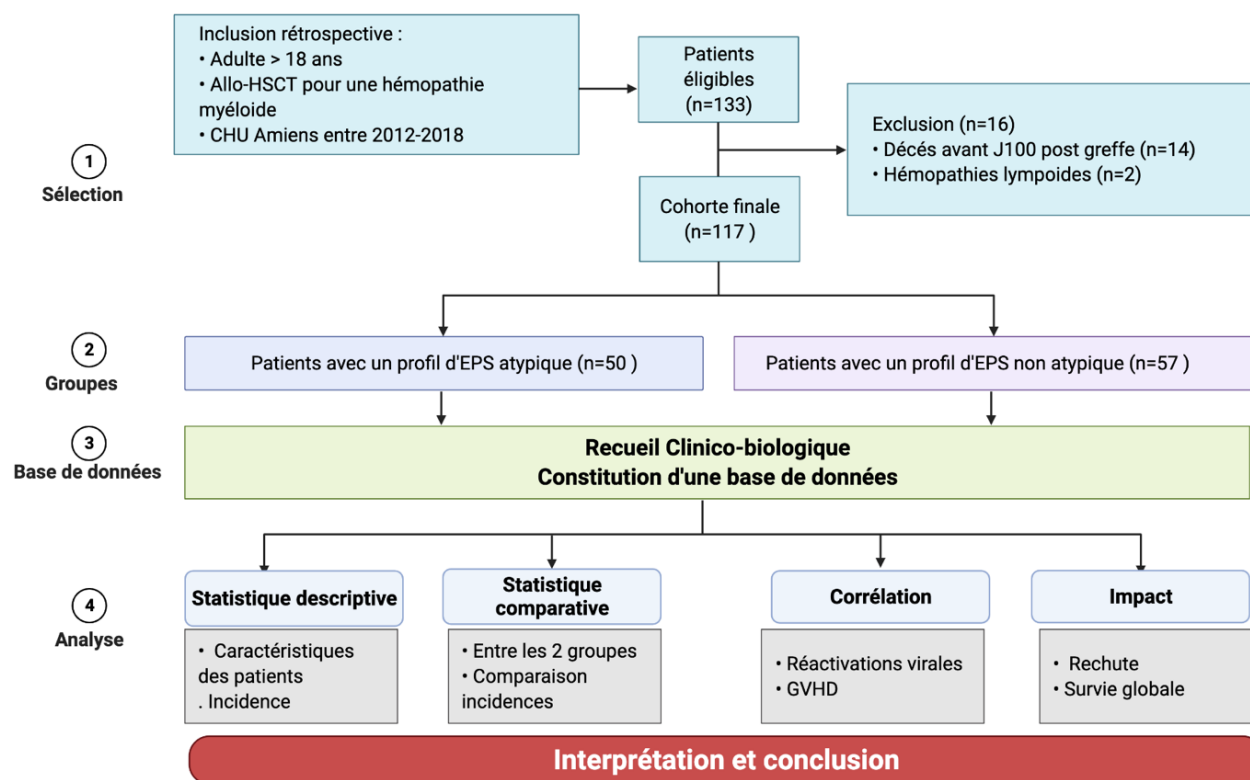


Figure 17 : Récapitulatif de la méthodologie

2. Électrophorèses et immunofixations des protéines sériques

Les EPS ont été réalisées à 30 jours, 100 jours, 6 mois et 12 mois après l'allo-HSCT, sur l'automate « Capillarys 2 Flex Piercing » (Sebia). Les EPS pouvaient également être effectuées au-delà de 12 mois après l'allo-HSCT, à la demande du médecin. Une immunofixation a été systématiquement réalisée (système Hydrasys 2, Sebia) en cas d'anomalie observée à l'électrophorèse. Un profil atypique d'EPS était défini par l'apparition d'un ou plusieurs pics d'aspect monoclonal ou oligoclonal, migrant dans les bêta-globulines ou les gammaglobulines sur le profil d'électrophorèse, à tout moment, et confirmé par la présence de bandes monoclonales ou oligoclonales à l'IF sérique.

3. Réactivations virales

Les patients ont bénéficié d'un dépistage systématique des réactivations du cytomégalovirus (CMV), du virus d'Epstein-Barr (EBV) et du virus de l'herpès humain 6 (HHV6) par PCR quantitative sur sang total sur la chaîne ABBOTT m2000 (m2000sp + m2000rt), conformément aux procédures du laboratoire. Le CMV a été recherché deux fois par semaine et l'EBV une fois par semaine jusqu'à J100, puis tous les 7-15 jours pendant 1 mois, puis tous les mois jusqu'à 6 mois, puis tous les 2 mois jusqu'à 1 an. Le HHV6 a été recherché

une fois par semaine jusqu'à J100 uniquement pour les greffons haplo-identiques, et seulement en présence de symptômes évocateurs pour les autres. Nous avons défini la réactivation du CMV, de l'EBV ou du HHV6 comme une augmentation de la quantité totale d'ADN viral au-dessus du seuil de quantification. Au laboratoire de virologie du CHU d'Amiens-Picardie, les seuils de quantification sont de 40 UI/mL (1,6 log) pour le CMV, 150 UI/mL (2,18 log) pour l'EBV, 74 UI/mL (1,87 log) pour l'HHV6A et 68 UI/mL (1,83 log) pour l'HHV6B.

4. Autorisation institutionnelle

Cette étude a été approuvée par le comité d'éthique institutionnel du CHU d'Amiens-Picardie (numéro d'enregistrement PI2020_843_0121). Tous les patients ont donné leur consentement écrit pour l'enregistrement des données cliniques et biologiques dans la banque de données ProMIse de l'European and Bone Marrow Transplantation society.

5. Analyse statistique

Le test non paramétrique de Wilcoxon-Mann-Whitney a été utilisé pour comparer les patients présentant des EPS atypiques ou non atypiques en l'absence de distribution normale (vérifiée par le test de Shapiro-Wilk). Dans le cas contraire, un test T de Student a été effectué. Les variables qualitatives ont été évaluées à l'aide du test du Khi-deux. Des analyses univariées et multivariées ont été réalisées à l'aide d'un modèle de régression de Cox, et seules les variables qui ont atteint $p < 0,2$ dans l'analyse univariée ont été considérées pour l'analyse multivariée. L'apparition d'une EPS atypique a été évaluée comme une variable dépendante du temps. Le modèle de Cox et la méthode de Kaplan-Meier ont été utilisés pour l'analyse de survie. Le test de log-rank a été utilisé pour comparer l'incidence et les courbes de survie entre les différents groupes. Le délai avant la rechute a été défini comme le temps écoulé entre la transplantation et la date de la rechute, et la survie globale (OS) comme le temps écoulé entre la transplantation et le décès ou la date des dernières nouvelles. Une valeur $p < 0,05$ (bilatérale) a été considérée comme statistiquement significative. Toutes les analyses ont été effectuées à l'aide des logiciels R 4.0.2 de R Core Team Inc (1993) et XLSTAT de Addinsoft version 2020.5.

C. Résultats

1. Incidence des EPS atypiques et corrélation avec les caractéristiques cliniques

Cent dix-sept patients ont été inclus dans notre étude (76 hommes et 41 femmes), d'âge médian 58 ans (intervalle : 18-73 ans), atteints d'hémopathies malignes myéloïdes selon les critères d'inclusion et d'exclusion définis. Les caractéristiques cliniques des patients sont résumées dans le tableau 2. Brièvement, une GVHD aigue et chronique (tous grades) a été observée chez 62 et 44 patients, respectivement. Vingt-sept patients ont rechuté et la durée médiane de survie était de 29,9 mois. Des EPS atypiques ont été observés chez 50 des 117 patients (42,7 %), dont 18 présentaient des profils oligoclonaux et 32 des profils monoclonaux. Le délai médian d'apparition d'une EPS atypique était de 127 jours, et cette EPS atypique a persisté 430 jours en moyenne. La plupart des composants monoclonaux étaient de sous-type IgG (26/32, 81 %). Il n'y avait pas de différence significative en ce qui concerne l'âge, le sexe, le type de maladie sous-jacente, l'utilisation d'une injection de lymphocytes du donneur (DLI), le statut HLA, le régime de conditionnement, ni l'état de la maladie au moment de la transplantation entre les patients présentant des EPS atypiques ou non.

Tableau 2 : Caractéristiques cliniques de la cohorte totale (n=117) et des sous-groupes (atypique n=50 ; non atypique n=67)

Variable	Cohorte totale (n=117)		Sous-groupe selon le profil EPS		p-value
			Atypique (n=50)	Non atypique (n=67)	
Sexe. Hommes (%)	76 (64.9)		32 (64)	44 (65)	0.9
Age – médian (intervalle), (an)	58.16 (18-73)		57.1 (20.5-71.2)	58.3 (18-73)	0.94
Pathologie (%)					0.55
<i>LAM</i>	68 (58)		27 (54)	41 (61)	
<i>SMD</i>	19 (16)		10 (20)	9 (13.5)	
<i>PV/ET</i>	18 (15.5)		7 (14)	11 (16.5)	
<i>Myélofibrose</i>	6 (5.3)		3 (6)	3 (4.5)	
<i>LMC</i>	4 (3.5)		2 (4)	2 (3)	
<i>PDC</i>	2 (1.7)		1 (2)	1 (1.5)	
Statut avant transplantation (%)					0.57
<i>RC</i>	53 (45)		22 (44)	31 (46)	
<i>RP</i>	16 (14)		7 (14)	9 (13)	
<i>MP</i>	25 (21)		13 (26)	12 (18)	
Compatibilité HLA (%)					0.17
<i>Donneur apparenté compatible</i>	38 (27)		18 (36)	20 (30)	
<i>Donneur apparenté/non apparenté incompatible</i>	62 (53)		22 (44)	40 (60)	
<i>Donneur haploidentique</i>	17 (15)		10 (20)	7 (10)	
Régime de conditionnement (%)					0.62
<i>MAC</i>	21 (18)		10 (20)	11 (16)	
<i>RIC</i>	96 (82)		40 (80)	56 (84)	
GVHD aiguë (%)	62 (53)		32 (64)	30 (44)	0.04
GVHD chronique (%)	44 (38)		18 (36)	27 (40)	0.77
DLI (%)	29 (25)		12 (24)	17 (25)	0.9
Rechute (%)	27 (23)		11 (22)	16 (24)	0.9
OS – médian (intervalle) mois	29.9 (3.4-85.3)		33.1 (5.1-85.3)	28.33 (3.5-70.9)	0.007

LAM : Leucémie aiguë myéloïde. SMD : Syndrome myéodysplasique. PV : Polycythemia Vera. ET : Thrombocythémie essentielle.

LMC : Leucémie myéloïde chronique. PDC : Plasmacytoid dendritic cells. CR : Rémission complète. MP : Maladie en progression. RP : Rémission partielle

MAC : Conditionnement myéloablatif RIC : Conditionnement d'intensité réduite DLI : Donor-lymphocyte injection.

2. Corrélation entre les réactivations virales et l'apparition des profils d'EPS atypiques

Parmi les 117 patients, une réactivation du CMV est survenue chez 41 patients et une réactivation de l'EBV a été observée chez 74 patients, à tout moment. Parmi ces patients, 8 ont présenté les deux réactivations. Une réactivation de HHV6A/B a été observée chez 10 patients. La fréquence de ces réactivations virales, entre les patients avec ou sans profil EPS atypiques, a été comparée (tableau 3). Il est intéressant de noter que l'incidence de la réactivation du CMV était significativement plus élevée chez les patients présentant un profil EPS atypique (54 vs 20,9 %, $p = 0,0002$). Aucune différence significative n'a été observée pour les réactivations EBV ou HHV6.

Tableau 3 : Réactivations virales selon le profil EPS

Paramètres	EPS atypique (n=50)	EPS non atypique (n=67)	p-value
Réactivations CMV (%)	27 (54)	14 (20.9)	0.0002
Réactivations EBV (%)	35 (70)	39 (58.2)	0.25
Réactivations HHV6A/B (%)	4 (8)	6 (8.95)	0.9

Légendes : CMV : Cytomegalovirus. EBV : Epstein-Barr virus. HHV6 : Human Herpes virus 6.

Pour évaluer la corrélation entre la réactivation du CMV et la survenue d'une EPS atypique, le temps écoulé entre ces deux événements a été analysé. Le délai médian de la réactivation du CMV était de 41 jours après la greffe de CSH. La réactivation du CMV a précédé l'apparition de la composante monoclonale/oligoclonale chez 24 des 27 patients (Figure 18A). L'incidence cumulative des profils d'EPS atypiques était significativement plus élevée chez les patients présentant une réactivation du CMV par rapport aux autres (Figure 18B, $p = 0,0017$). De plus, le statut CMV du donneur et du receveur avant la transplantation prédisait de manière significative l'apparition d'un profil d'EPS atypique après une allo-HSCT (Figure 18C, $p = 0,031$). L'incidence cumulative des EPS atypiques était significativement plus élevée lorsque le donneur présentait un statut CMV+ avant la transplantation. Ces résultats ont montré une corrélation significative entre la réactivation du CMV et l'apparition d'un profil d'EPS atypique après une allo-HSCT.

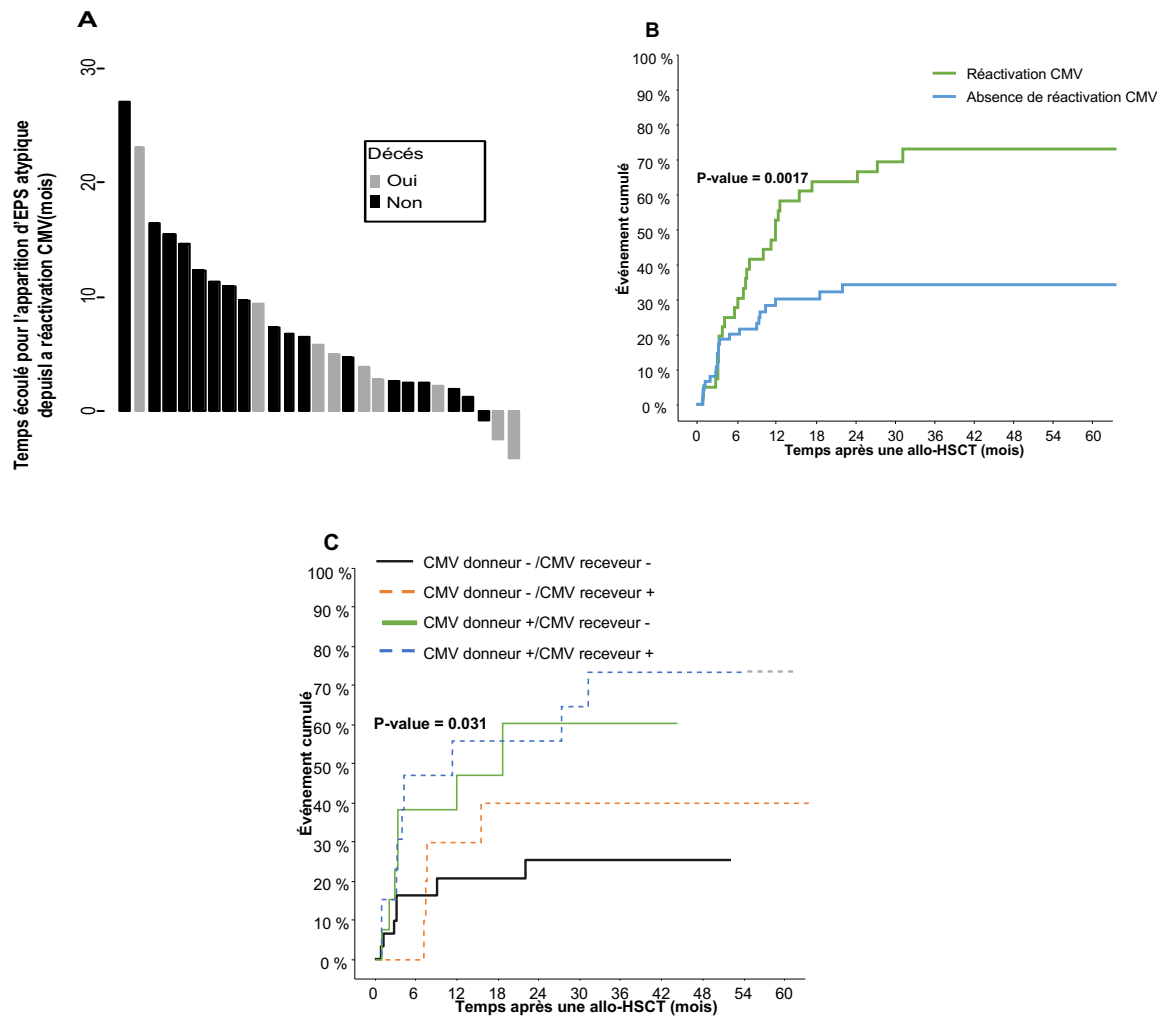


Figure 18 : Impact du statut CMV sur l'apparition d'une EPS atypique. A : Temps nécessaire pour développer une EPS atypique à partir d'une réactivation du CMV. Chaque barre représente un patient. Les barres grises représentent les patients décédés. B : Analyse de Kaplan-Meier de l'incidence cumulative des EPS atypiques chez les patients avec ou sans réactivation virale du CMV. C : Analyse de Kaplan-Meier de l'incidence cumulative des EPS atypiques en fonction de la compatibilité CMV (donneur-receveur) avant la transplantation

3. Corrélation entre GVHD et l'apparition d'une EPS atypique

L'incidence de la GVHD aiguë entre les patients avec ou sans profil d'EPS atypique a été comparée. La fréquence de la GVHD aiguë tous grades confondus était significativement plus élevée chez les patients présentant un profil d'EPS atypique (Tableau 2, 64% vs 44%, $p = 0,04$). Le délai médian d'apparition de la GVHD aiguë était de 40 jours après la greffe de CSH. La GVHD aiguë a également précédé l'apparition de l'EPS atypique chez 29 des 32 patients (Figure 19A). L'incidence cumulative des profils d'EPS atypiques était significativement plus élevée chez les patients atteints de GVHD aiguë par rapport aux autres (Figure 19B, $p = 0,019$). A noter qu'aucune différence significative de survenue de GVHD chronique n'a été observée entre les deux groupes (tableau 2).

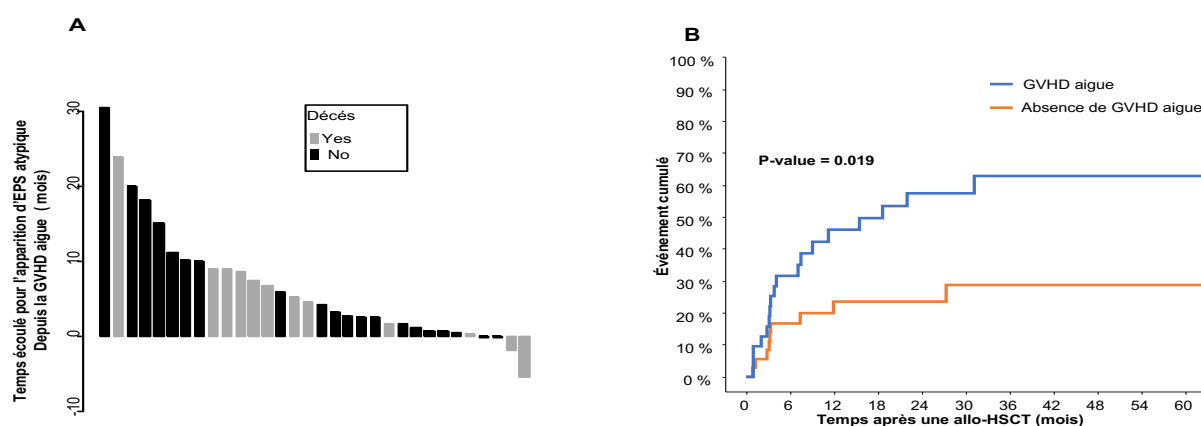


Figure 19 : Impact de la GVHD aiguë sur le développement d'une EPS atypique. A : Temps nécessaire pour l'apparition d'une EPS atypique à partir d'une GVHD aiguë. Chaque barre représente un patient. Les barres grises représentent les patients décédés. B : Analyse Kaplan-Meier de l'incidence cumulative des EPS atypiques chez les patients avec ou sans GVHD aiguë.

4. Facteurs étiologiques liés à l'apparition d'EPS atypique

Nous avons évalué l'impact de plusieurs variables, dont le sexe, les réactivations virales, l'utilisation de la DLI, la GVHD aiguë et chronique, sur l'incidence des EPS atypiques par une analyse univariée et une analyse multivariée (tableau 4). L'analyse univariée a montré que la réactivation du CMV et le développement d'une GVHD aiguë étaient les seuls paramètres significativement associés à l'apparition d'une EPS atypique (OR=4,44, $p < 0,001$ pour la réactivation du CMV ; OR = 2,33, $p = 0,027$ pour la GVHD aiguë). L'analyse multivariée a confirmé que la réactivation du CMV était le principal facteur significativement corrélé à l'apparition d'un profil d'EPS atypique (OR = 4,09, $p < 0,001$). Concernant la GVHD aiguë, l'analyse multivariée était proche de la significativité (OR = 2,07, $p = 0,08$). Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que la réactivation du CMV, et dans une moindre mesure l'apparition d'une GVHD aiguë, pouvaient être considérés comme des facteurs étiologiques liés à l'apparition de profils EPS atypiques après une allogreffe de CSH.

Tableau 4 : Analyses univariées et multivariées de l'incidence des EPS atypiques.

Variable	Analyse univariée			Analyse multivariée		
	OR	95% IC	p-value	OR	95% IC	p-value
Sexe	0.95	0.44-2.06	0.89			
Réactivation CMV	4.44	2.01-10.23	< 0.001	4.09	1.81-9.58	<0.001
Réactivation EBV	1.68	0.78-3.70	0.19	1.75	0.76-4.14	0.19
DLI	0.93	0.39-2.16	0.86			
GVHD aiguë	2.33	1.11-5.02	0.027	2.07	0.93-4.68	0.08
GVHD chronique	0.89	0.41-1.89	0.75			

OR : Odd Ratio estimé à partir du modèle de régression de Cox. IC : intervalle de confiance de l'OR estimé.

5. Impact des profils d'EPS atypiques sur le délai de rechute

Pour évaluer la signification clinique de ces profils d'EPS atypiques, l'incidence de rechute de l'hémopathie sous-jacente, chez les patients avec et sans profil d'EPS atypique, a été comparée. Une différence significative dans l'incidence cumulée des rechutes a été observée entre les deux groupes (Figure 20A). Néanmoins, nous avons constaté que la courbe d'incidence d'EPS atypique était clairement décalée vers la droite, suggérant un délai de rechute plus long que chez les patients présentant une EPS non atypique. Cet impact sur le délai de rechute a été confirmé en montrant que les patients présentant un profil d'EPS atypique avaient un délai de rechute significativement plus long que les patients présentant un profil non-atypique (486 jours contre 189 jours, $p = 0,006$) (Figure 20B).

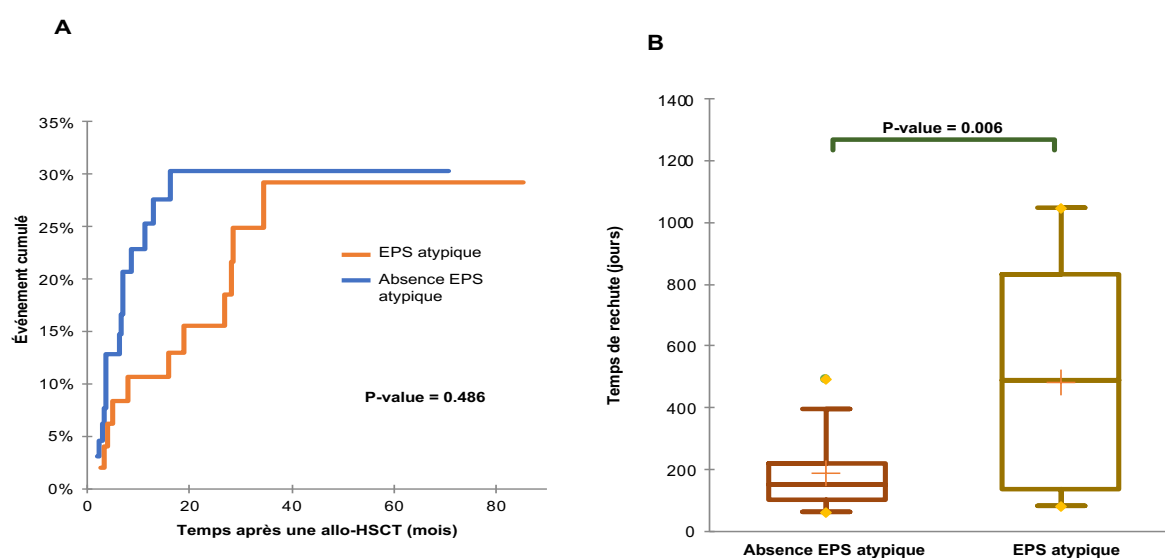


Figure 20 : Impact de la présence d'une EPS atypique sur la rechute. A : Analyse de Kaplan-Meier de l'incidence cumulative de la rechute chez les patients avec ou sans EPS atypique. B : Test de Fisher (test t) pour comparer le temps moyen de rechute chez les patients avec ou sans EPS atypique ($\alpha = 5\%$)

6. Impact des profils d'EPS atypiques sur la survie globale

Une analyse de survie par le modèle de Cox, considérant l'apparition d'une EPS comme une variable dépendante du temps, a montré une différence significative sur la survie globale, entre les patients qui ont développé un profil d'EPS atypique ou non ($p = 0,049$) (Figure 21). Le risque de décès était 2,3 fois moins élevé chez les patients présentant une EPS atypique que chez les autres. De manière étonnante, il a été observé sur l'ensemble de la cohorte que ni la réactivation du CMV ni la GVHD aiguë n'avaient d'impact indépendant sur la survie globale des patients (Figure 22A-B, $p = 0,721$ pour la réactivation du CMV et $p = 0,966$ pour la GVHD

aiguë). Ces résultats suggèrent que l’allongement observé de la survie globale, était associé à la présence d’un profil d’EPS atypique.

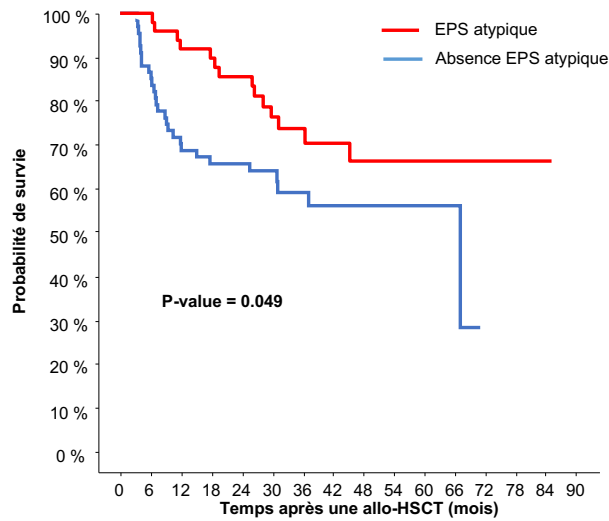


Figure 21 : Impact de la présence d’une EPS atypique sur la survie globale (OS). Analyse de Kaplan-Meier de la survie globale en fonction de la présence ou non d’une EPS atypique.

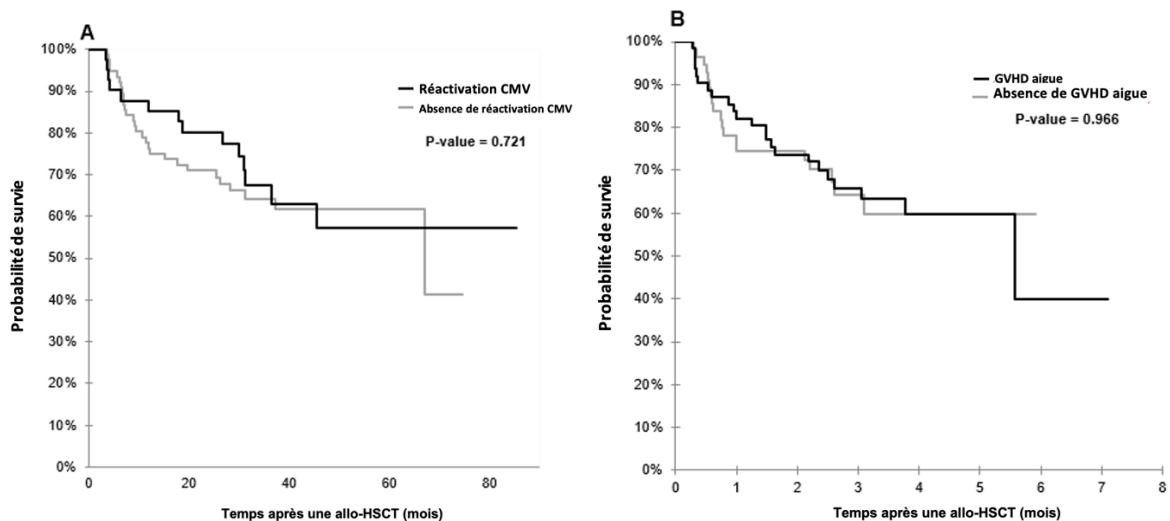


Figure 22 : Impact de la réactivation du CMV et de la maladie aiguë de GVD sur la survie globale. A : Analyse Kaplan-Meier de la survie globale (OS) des patients avec ou sans réactivation du CMV. B : Analyse Kaplan-Meier de la survie globale (OS) des patients avec ou sans GVHD aiguë.

Par ailleurs, il est intéressant de noter que le délai d’apparition des profils d’EPS atypiques n’a pas eu d’impact significatif sur la survie globale. En effet, la corrélation de Pearson n’a pas montré d’impact significatif entre le délai d’apparition de l’EPS atypique et la survie globale (Figure 23A, $R^2=0,025$ et $p=0,864$). De plus, l’analyse de Kaplan-Meier de la survie globale des patients divisés en 5 groupes, en fonction du moment de l’apparition de l’EPS atypique, n’a pas montré de différence significative entre les groupes (Figure 23B, $p=0,578$).

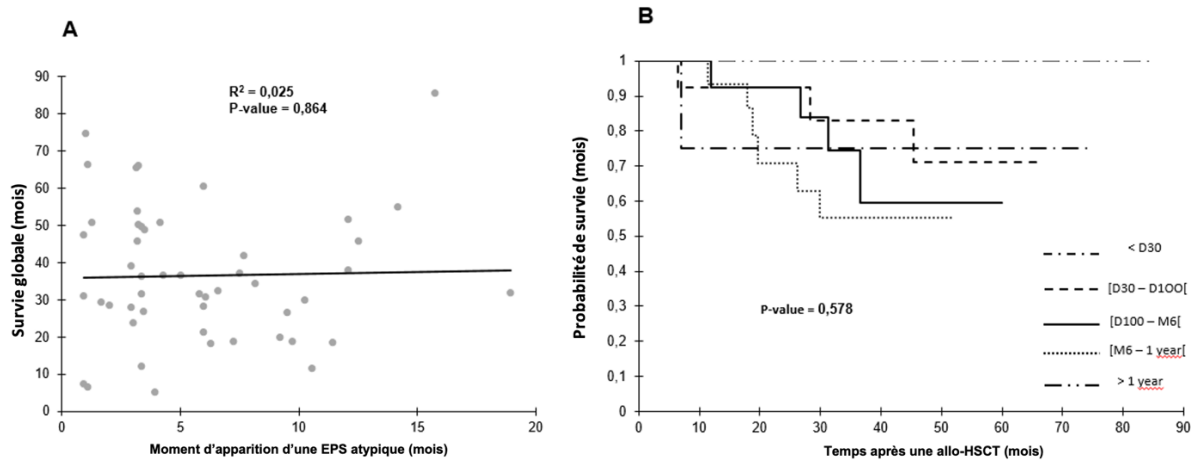


Figure 23 : Impact du délai d'apparition de l'EPS atypique sur la survie globale. A : Corrélation de Pearson entre le délai d'apparition de l'EPS atypique et la survie globale. B : Analyse de Kaplan-Meier de la survie globale (OS) des patients divisés en 5 sous-groupes en fonction du moment de l'apparition de l'EPS atypique. D= Day = jour, M=Month = Mois, year = année.

D'autres paramètres tels que la réactivation de l'EBV, l'utilisation de la DLI et la GVHD chronique n'ont pas eu d'impact sur la survie globale. En analyse multivariée, la présence d'une EPS atypique est restée le seul facteur améliorant significativement la survie globale (HR = 0,52, $p = 0,046$ en analyse univariée ; HR = 0,53, $p = 0,05$ en analyse multivariée ; tableau 5).

Tableau 5 : Analyses univariées et multivariées de la survie globale.

Variable	Analyse univariée			Analyse multivariée		
	HR	95% CI	p-value	HR	95% CI	p-value
EPS atypique	0.52	0.27-1.00	0.046	0.53	0.28-1.02	0.05
Réactivation CMV	1.12	0.47-1.69	0.722			
Réactivation EBV	0.57	0.31-1.05	0.07	0.65	0.35-1.21	0.18
DLI	0.52	0.23-1.16	0.11	0.52	0.22-1.17	0.11
GVHD aigue	0.9	0.5-1.6	0.78			
GVHD chronique	0.69	0.36-1.34	0.279			

HR : Hasard Ratio estimé à partir du modèle de régression de Cox. IC : intervalle de confiance de l'estimation du HR.

La survie globale a été analysée, entre les patients avec et sans profil d'EPS atypique, en fonction du profil d'appariement HLA entre le donneur et le receveur. Cette analyse en sous-groupe a confirmé que les patients qui ont développé un profil d'EPS atypique avaient une survie globale significativement plus longue que les patients avec un profil EPS non-atypique, sauf dans le cas d'une transplantation HLA appariée compatible (Figure 24, $p = 0,036$).

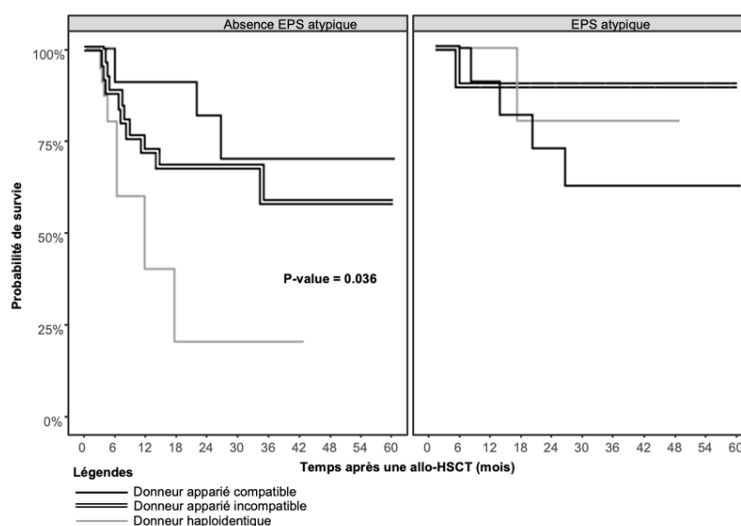


Figure 24 : Impact de la présence d'une EPS atypique sur la survie globale (OS) : analyse de Kaplan-Meier de la survie globale (OS) en fonction de la compatibilité HLA entre donneur et receveur avant la greffe, chez les patients avec ou sans EPS atypique.

IV. Discussion et conclusions

Cette étude a montré que des profils d'EPS atypiques sont apparus chez 42,7% des patients atteints d'hémopathies myéloïdes après une allo-HSCT, ce qui confirme l'incidence élevée de cet événement biologique après la transplantation. Une incidence similaire a été décrite précédemment dans quelques études évaluant l'apparition de pics à l'EPS chez les patients transplantés. Hammarstrom et Smith ont décrit des bandes monoclonales chez 18 patients sur 42 après une greffe de moelle osseuse, soit presque exactement la même proportion que dans notre étude (42,8 %) ⁶⁵. Mitus *et al.*, ont été les seuls, à notre connaissance, à évaluer l'apparition de pics à la fois oligoclonaux et monoclonaux, comme le suggère notre étude ⁶⁶. Ils ont trouvé une incidence de 52%, ce qui est comparable aux 42,7% observés dans notre cohorte ⁶⁶. D'autres études décrivent d'autres taux d'incidence, dans des contextes cliniques différents du nôtre. Par exemple, Lim *et al.*, ont détecté 36% de gammopathies clonales chez des patients recevant un conditionnement très spécifique ⁶⁷. Fischer *et al.* ont décrit une incidence de gammopathie monoclonale de 68% dans une population de jeunes enfants ⁶⁸. Chiusolo *et al.*, ont montré des anomalies dans la région des gammaglobulines chez 65,3 % des patients présentant une réactivation de l'EBV après une allo-HSCT ⁶⁹.

En ce qui concerne l'étiologie possible de ces profils d'EPS atypiques, comme dans les études précédentes, aucune corrélation avec l'âge, le sexe, le régime de conditionnement ou le type de la maladie sous-jacente n'a été trouvée ^{66,70-72}.

Il a été rapporté ici une corrélation significative avec la réactivation du CMV, qui est survenue chez 54% des patients développant un profil d'EPS atypique. Ces résultats sont comparables à ceux de Hebart *et al.*, qui ont rapporté une incidence de 50% de réactivation du CMV dans ce contexte⁷¹. Ils n'ont pas pu établir une relation formelle entre l'apparition d'un pic monoclonal et la réactivation du CMV, probablement en raison du faible nombre de patients dans leur étude (n = 11)⁷¹. Lim *et al.*, ont montré que la réactivation du CMV précédait la détection d'une EPS atypique dans la plupart des cas⁶⁷, comme observé dans notre étude. Certaines études portant sur des patients immunodéprimés transplantés avec des organes solides décrivent également une corrélation entre la réactivation du CMV et le développement de paraprotéines^{73,74}. Il est intéressant de constater que, pour la première fois, les profils d'EPS atypiques sont surtout présents chez les patients transplantés d'un donneur CMV+. Avec l'antériorité de la réactivation du CMV, ces données suggèrent fortement que l'apparition d'une EPS atypique après une allogreffe de CSH met en évidence une expansion clonale des cellules immunitaires du donneur en réaction à la réactivation du CMV.

L'association entre les profils d'EPS atypiques et la GVHD aiguë a été également montrée. Nos résultats confirment ceux de deux études précédentes montrant une corrélation entre le développement de la GVHD et le développement d'un composant monoclonal^{66,72}. Il est à noter que la réactivation du CMV et la GVHD aiguë n'ont pas eu d'impact sur la survie globale dans notre étude, ce qui est inattendu. L'exclusion des patients décédés avant J100 a certainement permis d'exclure les biais liés aux décès précoces qui sont couramment observés dans les cas de GVHD aiguë sévère, ou de réactivation virale sévère. Ce choix d'exclure les patients décédés précocement était une condition nécessaire pour se concentrer sur les résultats d'EPS atypiques, et pour minimiser l'effet de la TRM. Comme seul un petit nombre de patients présentait une GVHD de haut grade, l'effet de la GVHD de tous grades a été analysé dans cette cohorte, expliquant probablement aussi son issue non défavorable. En accord avec les études précédentes, il a été montré que la survenue d'une EPS atypique après une allogreffe améliore la survie globale^{67,72}. Ce résultat très intéressant est également confirmé lorsque l'on classe les patients en fonction de leur appariement HLA, en particulier dans le cas de greffes non apparentées HLA. Le fait qu'aucun bénéfice n'ait été démontré sur la survie globale pour les patients greffés à partir de frères et sœurs HLA compatibles doit être pondéré par leur bon pronostic particulier, largement confirmé dans la littérature⁷⁵.

Enfin, notre étude montre également pour la première fois que la survenue d'une EPS atypique après une allo- HSCT retarde la rechute de la maladie maligne sous-jacente. D'abord, cela peut expliquer en partie le meilleur pronostic associé à cet événement biologique. Ensuite,

elle pourrait mettre en évidence un effet sous-jacent de GVL qui est le but principal de l'allo-HSCT. Cette hypothèse est renforcée par la corrélation significative entre les EPS atypiques et la GVHD aiguë de tous grades, qui est souvent considérée comme le reflet d'une réponse immunitaire après une allo-HSCT^{10,76}.

L'exposition à des événements post-transplantation spécifiques tels que la réactivation du CMV ou la GVHD aiguë peuvent favoriser la réponse immunitaire. Nos travaux laisse supposer que les EPS atypiques peuvent être considérées comme un marqueur de la réaction immunologique post allo-HSCT^{67,70-72}. La réactivation du CMV peut entraîner une expansion clonale ciblée des cellules immunitaires anti-CMV à partir de cellules de donneurs précédemment immunisés, ce qui explique en partie l'incidence plus élevée des profils d'EPS atypiques après une allogreffe de donneurs CMV+ et après une réactivation du CMV. La GVHD aiguë peut également déclencher l'apparition des EPS atypiques, reflétant peut-être un effet GVL efficace sous-jacent qui pourrait expliquer en partie le délai plus long avant la rechute, observé ici. Quelle que soit son origine sous-jacente, l'apparition d'une EPS atypique semble être favorable aux patients.

La présence de composants monoclonaux ou oligoclonaux sur les EPS, après une allo-HSCT, peut refléter une réponse immunitaire post-transplantation adaptée, comme une expansion clonale anti-CMV à partir de cellules du donneur pré-munies, et/ou refléter une activité GVHD et GVL, conduisant à des résultats favorables. Ces travaux permettent aux cliniciens et aux biologistes d'interpréter les profils atypiques des EPS comme étant courants, bénins et associés à un meilleur pronostic après une allo-transplantation. Les résultats de ce projet ont fait l'objet d'une publication disponible en Annexe 1.

V. Bibliographie

1. Arber, D. A. *et al.* The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* **127**, 2391–2405 (2016).
2. Swerdlow, S. H. *et al.* The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* **127**, 2375–2390 (2016).
3. SPF. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018 - Hémopathies malignes : Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim.
4. Ndiaye, M. T.-L. K. Hémopathies malignes : évolutions et comparaisons en France et en Île-de-France. 110.
5. Balassa, K., Danby, R. & Rocha, V. Haematopoietic stem cell transplants: principles and indications. *Br. J. Hosp. Med. Lond. Engl.* **2005** **80**, 33–39 (2019).
6. *The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies.* (Springer, 2019).
7. Immunologie fondamentale et immunopathologie. <https://www.elsevier-masson.fr/immunologie-fondamentale-et-immunopathologie-9782294756580.html>.
8. Klein, J. & Sato, A. The HLA System. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM200009073431006>
9. Welniak, L. A., Blazar, B. R. & Murphy, W. J. Immunobiology of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Annu. Rev. Immunol.* **25**, 139–170 (2007).
10. Blazar, B. R., Hill, G. R. & Murphy, W. J. Dissecting the biology of allogeneic HSCT to enhance the GvT effect whilst minimizing GvHD. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **17**, 475–492 (2020).
11. Choi, J. *et al.* Baricitinib-induced blockade of interferon gamma receptor and interleukin-6 receptor for the prevention and treatment of graft-versus-host disease. *Leukemia* **32**, 2483–2494 (2018).
12. Graft Versus Leukemia: Current Status and Future Perspectives | Journal of Clinical Oncology.
13. Lafarge, X. What compatibility in 2017 for the haematopoietic stem cell transplantation? *Transfus. Clin. Biol.* **24**, 124–130 (2017).
14. Agence de la biomédecine. <https://rams.agence-biomedecine.fr/activite-nationale-de-greffe-de-csh-0>.
15. Amouzegar, A., Dey, B. R. & Spitzer, T. R. Peripheral Blood or Bone Marrow Stem Cells? Practical Considerations in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Transfus. Med. Rev.* **33**, 43–50 (2019).
16. Bensinger, W. I. *et al.* Transplantation of bone marrow as compared with peripheral-blood cells from HLA-identical relatives in patients with hematologic cancers. *N. Engl. J. Med.* **344**, 175–181 (2001).
17. Duarte, R. F. *et al.* Indications for haematopoietic stem cell transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2019. *Bone Marrow Transplant.* **54**, 1525–1552 (2019).
18. Junghanss, C. *et al.* Incidence and outcome of bacterial and fungal infections following nonmyeloablative compared with myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a matched control study. *Biol. Blood Marrow Transplant. J. Am. Soc. Blood Marrow Transplant.* **8**, 512–520 (2002).
19. Styczyński, J. *et al.* Death after hematopoietic stem cell transplantation: changes over calendar year time, infections and associated factors. *Bone Marrow Transplant.* **55**, 126–136 (2020).
20. Chaudhry, H. M. *et al.* The Incidence and Severity of Oral Mucositis among Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation Patients: A Systematic Review. *Biol. Blood Marrow Transplant. J. Am. Soc. Blood Marrow Transplant.* **22**, 605–616 (2016).
21. Girmenia, C. *et al.* Incidence, Risk Factors and Outcome of Pre-engraftment Gram-Negative Bacteremia After Allogeneic and Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation: An Italian Prospective Multicenter Survey. *Clin. Infect. Dis.* **65**, 1884–1896 (2017).
22. Mikulska, M. *et al.* Fluoroquinolone prophylaxis in haematological cancer patients with neutropenia: ECIL critical appraisal of previous guidelines. *J. Infect.* **76**, 20–37 (2018).
23. Kontoyiannis, D. P. *et al.* Prospective Surveillance for Invasive Fungal Infections in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients, 2001–2006: Overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) Database. *Clin. Infect. Dis.* **50**, 1

24. Girmenia, C. *et al.* Incidence and Outcome of Invasive Fungal Diseases after Allogeneic Stem Cell Transplantation: A Prospective Study of the Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo (GITMO). *Biol. Blood Marrow Transplant.* **20**, 872–880 (2014).
25. Upton, A., Kirby, K. A., Carpenter, P., Boeckh, M. & Marr, K. A. Invasive aspergillosis following hematopoietic cell transplantation: outcomes and prognostic factors associated with mortality. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* **44**, 531–540 (2007).
26. Arnaout, K. *et al.* Complications of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Cancer Invest.* **32**, 349–362 (2014).
27. Blennow, O. *et al.* Varicella-zoster reactivation after allogeneic stem cell transplantation without routine prophylaxis--the incidence remains high. *Biol. Blood Marrow Transplant. J. Am. Soc. Blood Marrow Transplant.* **20**, 1646–1649 (2014).
28. Styczynski, J. *et al.* Management of HSV, VZV and EBV infections in patients with hematological malignancies and after SCT: guidelines from the Second European Conference on Infections in Leukemia. *Bone Marrow Transplant.* **43**, 757–770 (2009).
29. Billingham, R. E. The biology of graft-versus-host reactions. *Harvey Lect.* **62**, 21–78 (1966).
30. Ghimire, S. *et al.* Pathophysiology of GvHD and Other HSCT-Related Major Complications. *Front. Immunol.* **8**, 79 (2017).
31. Jenq, R. R. & van den Brink, M. R. M. Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: individualized stem cell and immune therapy of cancer. *Nat. Rev. Cancer* **10**, 213–221 (2010).
32. Fuji, S. *et al.* Impact of HLA allele mismatch on the clinical outcome in serologically matched related hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant.* **49**, 1187–1192 (2014).
33. Mesnil, F. Evaluation des résultats des allogreffes de CSH par équipe,. 29 (2019).
34. Jagasia, M. H. *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.* **21**, 389–401.e1 (2015).
35. Vigorito, A. C. *et al.* Evaluation of NIH consensus criteria for classification of late acute and chronic GVHD. *Blood* **114**, 702–708 (2009).
36. Glucksberg, H. *et al.* Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation* **18**, 295–304 (1974).
37. Socié, G. & Ritz, J. Current issues in chronic graft-versus-host disease. *Blood* **124**, 374–384 (2014).
38. Justiz Vaillant, A. A., Modi, P. & Mohammadi, O. Graft Versus Host Disease.
39. Gooptu, M. & Antin, J. H. GVHD Prophylaxis 2020. *Front. Immunol.* **12**, 605726 (2021).
40. Grube, M. *et al.* Risk Factors and Outcome of Chronic Graft-versus-Host Disease after Allogeneic Stem Cell Transplantation-Results from a Single-Center Observational Study. *Biol. Blood Marrow Transplant. J. Am. Soc. Blood Marrow Transplant.* **22**, 1781–1791 (2016).
41. Penack, O. *et al.* Prophylaxis and management of graft versus host disease after stem-cell transplantation for haematological malignancies: updated consensus recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Lancet Haematol.* **7**, e157–e167 (2020).
42. Ozdemir, Z. N. & Civriz Bozdağ, S. Graft failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transfus. Apher. Sci. Off. J. World Apher. Assoc. Off. J. Eur. Soc. Haemapheresis* **57**, 163–167 (2018).
43. Olsson, R. *et al.* Graft failure in the modern era of allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant.* **48**, 537–543 (2013).
44. M, B. *et al.* [Mucositis after allogeneic stem cell transplantation: Risk factors, clinical consequences and prophylaxis]. *Pathol. Biol. (Paris)* **63**, (2015).
45. Coppell, J. A. *et al.* Hepatic veno-occlusive disease following stem cell transplantation: incidence, clinical course, and outcome. *Biol. Blood Marrow Transplant. J. Am. Soc. Blood Marrow Transplant.* **16**, 157–168 (2010).
46. A, R. *et al.* Ongoing graft-versus-host disease is a risk factor for azoospermia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a survey of the Late Effects Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Haematologica* **98**, (2013).
47. Danylesko, I. & Shimoni, A. Second Malignancies after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Curr. Treat. Options Oncol.* **19**, 9 (2018).

48. Majhail, N. S. *et al.* Recommended screening and preventive practices for long-term survivors after hematopoietic cell transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant. J. Am. Soc. Blood Marrow Transplant.* **18**, 348–371 (2012).
49. Annaloro, C. *et al.* Viral Infections in HSCT: Detection, Monitoring, Clinical Management, and Immunologic Implications. *Front. Immunol.* **11**, 569381 (2020).
50. Boelens, J. J., Hosszu, K. K. & Nierkens, S. Immune Monitoring After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: Toward Practical Guidelines and Standardization. *Front. Pediatr.* **8**, 454 (2020).
51. Cao, F., Zhang, R., Xu, L., Liu, M. & Yuan, Y. Application of Capillary Electrophoresis in Monoclonal Gammopathies and the Cutoff Value of Monoclonal Protein in Differential Diagnosis of Multiple Myeloma and Other Monoclonal Gammopathies. *Ann. Clin. Lab. Sci.* **51**, 400–407 (2021).
52. Lissoir, B., Wallemacq, P. & Maisin, D. [Serum protein electrophoresis: comparison of capillary zone electrophoresis Capillarys (Sebia) and agarose gel electrophoresis Hydrasys (Sebia)]. *Ann. Biol. Clin. (Paris)* **61**, 557–562 (2003).
53. Kahle, J. & Wätzig, H. Determination of protein charge variants with (imaged) capillary isoelectric focusing and capillary zone electrophoresis. *Electrophoresis* **39**, 2492–2511 (2018).
54. Padelli, M. *et al.* Systematic overestimation of human serum albumin by capillary zone electrophoresis method due to monoclonal immunoglobulin interferences. *Clin. Chim. Acta Int. J. Clin. Chem.* **491**, 74–80 (2019).
55. O’Connell, T., Horita, T. J. & Kasravi, B. Understanding and Interpreting the Serum Protein Electrophoresis. *Am. Fam. Physician* **71**, 105–112 (2005).
56. Szymanowicz, A. *et al.* Proposition de commentaires interprétatifs prêts à l’emploi pour l’électrophorèse des protéines sériques. 367–380.
57. Keren, D. *Protein Electrophoresis in Clinical Diagnosis.* (CRC Press, 2003).
58. Nwogbo, O. V., Jin, Y., Sliker, T., Wilhite, D. & Singh, G. Analysis of Multiple Bands on Serum Protein Immunofixation Electrophoresis: Challenge in Interpretation of Clonality in a Patient with Light Chain-Predominant Multiple Myeloma. *Lab. Med.* **52**, 503–508 (2021).
59. Mrosewski, I. & Urbank, M. Identification of Paraproteins via Serum Immunofixation or Serum Immunosubtraction and Immunoturbidimetric Quantitation of Serum Immunoglobulins in the Laboratory Testing for Monoclonal Gammopathies. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **145**, 1552–1557 (2021).
60. Dispenzieri, A. *et al.* International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia* **23**, 215–224 (2009).
61. Singh, G. Serum and Urine Protein Electrophoresis and Serum-Free Light Chain Assays in the Diagnosis and Monitoring of Monoclonal Gammopathies. *J. Appl. Lab. Med.* **5**, 1358–1371 (2020).
62. Karfö, R. *et al.* [Difficult immunofixation electrophoresis interpretation of serum proteins]. *Pan Afr. Med. J.* **30**, 130 (2018).
63. Smith, J., Raines, G. & Schneider, H.-G. A comparison between high resolution serum protein electrophoresis and screening immunofixation for the detection of monoclonal gammopathies in serum. *Clin. Chem. Lab. Med.* **56**, 256–263 (2018).
64. Ciaiolo, C. & Marietti, G. [Reverse immunofixation. A new technic for the identification of mono/oligoclonal immunoglobulin components]. *Minerva Med.* **76**, 1823–1824 (1985).
65. Hammarström, L. & Smith, C. I. Frequent occurrence of monoclonal gammopathies with an imbalanced light-chain ratio following bone marrow transplantation. *Transplantation* **43**, 447–449 (1987).
66. Mitus, A. J. *et al.* Monoclonal and oligoclonal gammopathy after bone marrow transplantation. *Blood* **74**, 2764–2768 (1989).
67. Lim, Z. Y. *et al.* Clonal gammopathies following alemtuzumab-based reduced intensity conditioning haematopoietic stem cell transplantation: association with chronic graft-versus-host disease and improved overall survival. *Bone Marrow Transplant.* **40**, 747–752 (2007).
68. Fischer, A. M. *et al.* Prospective study of the occurrence of monoclonal gammopathies following bone marrow transplantation in young children. *Transplantation* **49**, 731–735 (1990).
69. Chiusolo, P. *et al.* Prospective evaluation of epstein-barr virus reactivation after stem cell

- transplantation: association with monoclonal gammopathy. *J. Clin. Immunol.* **30**, 894–902 (2010).
70. Nagashima, T., Muroi, K., Kawano-Yamamoto, C., Komatsu, N. & Ozawa, K. Paraproteinemia after hematopoietic stem cell transplantation. *Leuk. Lymphoma* **45**, 135–137 (2004).
 71. Hebart, H. *et al.* CMV infection after allogeneic bone marrow transplantation is associated with the occurrence of various autoantibodies and monoclonal gammopathies. *Br. J. Haematol.* **95**, 138–144 (1996).
 72. Widmer, C. C., Balabanov, S., Schanz, U. & Theoharides, A. P. A. Transient paraproteinemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is an underexplored phenomenon associated with graft versus host disease. *Oncotarget* **8**, 106333–106341 (2017).
 73. High Rate of Monoclonal Gammopathy among Immunocompetent Subjects with Primary Cytomegalovirus Infection | Clinical Infectious Diseases | Oxford Academic. <https://academic.oup.com/cid/article/35/11/1430/430394>.
 74. Tajima, T. *et al.* Post-transplant Lymphoproliferative Disorders After Liver Transplantation: A Retrospective Cohort Study Including 1954 Transplants. *Liver Transpl.* **27**, 1165–1180 (2021).
 75. Shaw, B. E., Arguello, R., Garcia-Sepulveda, C. A. & Madrigal, J. A. The impact of HLA genotyping on survival following unrelated donor haematopoietic stem cell transplantation. *Br. J. Haematol.* **150**, 251–258 (2010).
 76. Markey, K. A., MacDonald, K. P. A. & Hill, G. R. The biology of graft-versus-host disease: experimental systems instructing clinical practice. *Blood* **124**, 354–362 (2014).



Available online at
ScienceDirect
 www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
 www.em-consulte.com



Beneficial outcomes and epidemiologic of atypical electrophoretic profiles arising after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for myeloid malignancies

Kaies Hedhli^{a,1}, Valentin Clichet^{b,1}, Amandine Charbonnier^c, Sandrine Castelain^d, Antoine Galmiche^{a,e}, Jean-Pierre Marolleau^c, Thomas Boyer^{b,f}, Alexis Caulier^{c,f}, Chloé Sauzay^{a,e,*}

^a Laboratoire de Biochimie, CBH, CHU Amiens-Picardie, Avenue Laennec, Amiens 80054, France
^b Laboratoire d'Hématologie, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
^c CHU Amiens-Picardie, Service d'Hématologie Clinique et de Thérapie Cellulaire, Amiens, France
^d Laboratoire de Virologie, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
^e Equipe CHIMERE, EA 7516, Université de Picardie Jules Verne, Amiens, France
^f Equipe HEMATIM, EA 4666, Université de Picardie Jules Verne, France

ARTICLE INFO

Article History:
 Received 14 December 2020
 Accepted 9 November 2021
 Available online xxx

Keywords:
 Allo-HSCT
 Monoclonal component
 Oligoclonal component
 Electrophoresis
 Myeloid malignancies

ABSTRACT

Purpose of the study: Atypical serum protein electrophoresis (SPE) profiles may arise in patients who received allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT), but little is known about their clinical significance. Atypical SPE combine either monoclonal and oligoclonal components, suspected on SPE and confirmed by immunofixation. The aim of the study is to analyze the incidence, the etiology and the clinical significance of atypical SPE profiles in patients who received allo-HSCT.

Patients and methods: This retrospective study enrolled 117 patients with myeloid malignancies who received an allo-HSCT between 2012 and 2018. We excluded patients with lymphoid malignancies or multiple myeloma, patients presenting atypical electrophoresis prior to transplantation and patients who died within 100 days post-transplant.

Results: Atypical SPE occurred in 42.7% of patients. The cumulative incidence of atypical profiles was significantly higher in patients with acute Graft Versus Host Disease (GVHD, $p = 0.019$) and in patients with Cytomegalovirus (CMV) reactivation ($p = 0.0017$). We observed for the first time that atypical SPE profiles mostly occurred in patients transplanted from a CMV+ donor ($p = 0.031$). CMV reactivation preceded the occurrence of atypical SPE in the majority of patients. We show that atypical SPE delay the relapse of the underlying malignant disease (486 vs 189 days, $p = 0.006$), and significantly improve overall survival (OS; 33.1 months vs 28.3 months, $p = 0.049$). In both univariate and multivariate analyzes, the presence of an atypical SPE is the only factor that significantly improves OS.

Conclusions: The occurrence of atypical SPE profiles after allo-HSCT may reflect an adapted post-transplant immune response leading to favourable outcomes.

© 2021 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Introduction

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) is still considered as an effective therapeutic option in most of the hematological malignancies. However, this procedure remains associated with high mortality risk, either due to direct toxicity assessed by transplantation-related mortality (TRM) or to frequent relapses of

the disease [1]. The aim of allo-HSCT is to provide an allogeneic efficient immunotherapy to decrease the risk of relapse of the underlying disease. After hematopoietic reconstitution, biologists and clinicians often observe monoclonal or oligoclonal components on serum protein electrophoresis (SPE) in patients who received allo-HSCT, but very little is known about their clinical relevance [2–7]. These SPE profiles, considered as "atypical", are poorly described in the literature. The incidence of these profiles is still debated, ranging from 18 to 90% [2–7]. Few studies hypothesized a relation between these profiles and reactivation of CMV and EBV viruses [5,8] and/or with an aberrant immune reconstitution [2–4]. In this retrospective study, we evaluated the incidence, the epidemiologic features and

* Corresponding author at: CBH, CHU Amiens-Picardie, Laboratoire de Biochimie, Avenue Laennec, Amiens 80054, France.

E-mail address: sauzay.chloe@chu-amiens.fr (C. Sauzay).

¹ These authors contributed equally to this work

the prognostic impact of these atypical SPE profiles among 117 patients presenting myeloid malignancies who received an allo-HSCT between 2012 and 2018.

Patients and methods

Study design and clinical features

This monocentric retrospective study enrolled all adult (≥ 18 years old) patients with myeloid disease who received an allo-HSCT at the Amiens-Picardie University Hospital (France) between 01/01/2012 and 31/12/2018. We excluded patients with lymphoid malignancies or multiple myeloma, due to the high frequency of monoclonal components associated with the underlying disease. Patients presenting atypical electrophoresis prior to transplantation were also excluded. We also excluded patients who died within 100 days post-transplant to avoid the TRM associated bias.

For all included patients, biological data were extracted from our laboratory management system (DxLab Software, Medasys, le Plessis-Robinson, France). Clinical data were obtained from the medical prescription software (DxCare Software, Medasys, le Plessis-Robinson, France) and from clinical observations.

Serum protein electrophoresis and immunofixations

SPE was performed by capillary method at day 30, day 100, 6 months and 12 months after the allo-HSCT, on the Capillarys 2 Flex piercing instrument (Sebia, Lisses, France). SPE may also be performed beyond 12 months after allo-HSCT, at physician's discretion. Immunofixation was systematically carried out (Hydrasys 2 system, Sebia, Lisses, France) in case of any abnormality observed on electrophoresis. An atypical SPE profile was defined by the occurrence of one or more betaglobulin or gammaglobulin peaks on the

electrophoresis profile, at any time, and confirmed by the presence of monoclonal or oligoclonal bands at immunofixation.

Viral reactivation

Patients were routinely screened for cytomegalovirus (CMV), Epstein - Barr virus (EBV) and Human herpes virus6 (HHV6) reactivations by quantitative PCR in whole blood on the ABBOTT m2000 chain (m2000sp + m2000rt), according to our procedures. CMV was tested twice a week and EBV once a week until D100, then every 7–15 days for 1 month, then every month until 6 months, then every 2 months until 1 year. HHV6 was tested once a week until D100 only for haplo-identical transplants, and only in the presence of suggestive symptoms for the others. We defined CMV, EBV or HHV6 reactivation as an increase of total amount of viral DNA above the quantification threshold. In the virology laboratory of the Amiens-Picardie University Hospital, the quantification thresholds are 40 UI/mL (1.6 log) for CMV, 150 UI/mL (2.18 log) for EBV, 74 UI/mL (1.87 log) for HHV6A and 68 UI/mL (1.83 log) for HHV6B.

Institutional authorization

This study was approved by the institutional review board of Amiens-Picardie University Hospital (registration number PI2020_843_0121.). All patients provided a written consent to record clinical and biological data in the ProMise databank from the European and Bone Marrow Transplantation society.

Statistical analysis

Non-parametric Wilcoxon-Mann-Whitney test was used to compare patients with either atypical or non-atypical SPE profiles in the absence of normal distribution (verified by the Shapiro-Wilk test),

Table 1
Clinical characteristics of the patients.

Variable	Overall Cohort (n = 117)	Grouped by SPE profiles		
		Atypical (n = 50)	Non atypical (n = 67)	p-value
Sexe. Males (%)	76 (64.9)	32 (64)	44 (65)	0.9
Age – median (range), years	58.16 (18–73)	57.1 (20.5–71.2)	58.3 (18–73)	0.94
Pathology (%)				0.55
AML	68 (58)	27 (54)	41 (61)	
MDS	19 (16)	10 (20)	9 (13.5)	
PV/ET	18 (15.5)	7 (14)	11 (16.5)	
Myelofibrosis	6 (5.3)	3 (6)	3 (4.5)	
CML	4 (3.5)	2 (4)	2 (3)	
PDC	2 (1.7)	1 (2)	1 (1.5)	
Status before transplant (%)				0.57
CR	53 (45)	22 (44)	31 (46)	
PR	16 (14)	7 (14)	9 (13)	
PD	25 (21)	13 (26)	12 (18)	
HLA compatibility (%)				0.17
Matched related donor	38 (27)	18 (36)	20 (30)	
Matched/Mismatched unrelated donor*	62 (53)	22 (44)	40 (60)	
Haploidentical donor	17 (15)	10 (20)	7 (10)	
Conditioning regimen (%)				0.62
MAC	21 (18)	10 (20)	11 (16)	
RIC	96 (82)	40 (80)	56 (84)	
Acute GVH Disease (%)	62 (53)	32 (64)	30 (44)	0.04
Chronic GVH Disease (%)	44 (38)	18 (36)	27 (40)	0.77
DLI use (%)	29 (25)	12 (24)	17 (25)	0.9
Relapse (%)	27 (23)	11 (22)	16 (24)	0.9
OS – median (range) months	29.9 (3.4–85.3)	33.1 (5.1–85.3)	28.33 (3.5–70.9)	0.007

AML : Acute Myeloid Leukemia. MDS : Myelodysplastic Syndrome. PV: Polycythemia Vera. ET: Essential Thrombocythemia.

CML : Chronic Myeloid Leukemia. PDC : Plasmacytoid dendritic cells. CR : Complete remission. PD: Progressive disease.

MAC: Myeloablative Conditioning RIC: Reduced Intensity Conditioning DLI : Donor-lymphocyte injection.

* Including 3 HLA 9/10 mismatched transplant.

otherwise a Student T-test was performed. Qualitative variables were assessed using the Chi-square test. Univariate and multivariate analyses were performed using a Cox proportional hazard regression model, and only variables that reached $p < 0.2$ in univariate analysis were considered for multivariate analysis. The onset of an atypical SPE has been evaluated as a time-dependent variable. Cox model and Kaplan-Meier method was used to estimate survival analysis. The log-rank test was used to compare the incidence and the survival curves between different groups. Time to relapse was defined as the time from transplant to the date of the relapse, and Overall Survival (OS) as the time from transplant to death or to the date of latest news. A p value < 0.05 (two-tailed) was considered as statistically significant. All analyzes were performed using R 4.0.2 software from R Core Team Inc (1993) and XLSTAT by addinssoft version 2020.5.

Results

Incidence of atypical spe profiles and correlation with clinical features

117 patients with myeloid malignancies were included in the study according to the defined inclusion and exclusion criteria. The clinical characteristics of the patients are summarized in Table 1. Briefly, 76 patients were males and 41 were females (median age: 58, range: 18–73). All grades acute and chronic Graft-versus-Host disease (GVHD) were observed in 62 and 44 patients, respectively. 27 patients relapsed and median OS was 29.9 months.

Atypical SPE profiles were observed in 50 out of 117 patients (42.7%), in which 18 showed oligoclonal and 32 monoclonal profiles. The median time to the onset of an atypical SPE was 127 days, and this atypical SPE persisted 430 days on average. Most monoclonal components were of IgG subtype (26/32, 81%). There was no significant difference in age, gender, type of underlying disease, use of donor lymphocyte infusion (DLI), HLA status, conditioning regimen, nor disease status at time of transplant between patients displaying either atypical or non-atypical SPE profiles.

Correlation between viral reactivations, GVHD and occurrence of atypical SPE profiles

Among the 117 patients, CMV reactivation occurred in 41 patients and EBV reactivation was observed in 74 patients, at any time. Among these patients, 8 patients showed both reactivations. HHV6A/B reactivation was seen in 10 patients. We compared the frequency of these viral reactivations between patients with or without atypical SPE profiles (Table 2). Interestingly, the incidence of CMV reactivation was significantly higher in patients with an atypical SPE profile (54 vs 20.9%, $p = 0.0002$). No significant difference was observed for EBV or HHV6 reactivations. To evaluate the correlation between CMV reactivation and the occurrence of an atypical SPE, the time elapsed between these two events was then analyzed. The median time to CMV reactivation was 41 days. CMV reactivation preceded the onset of the monoclonal/oligoclonal component in 24 out of 27 patients (Fig. 1A). The cumulative incidence of atypical SPE profiles was

significantly higher in patients displaying CMV reactivation compared to the others (Fig. 1B, $p = 0.0017$). Moreover, the CMV status of both donor and recipient prior to transplantation significantly predicts the occurrence of an atypical SPE profile after allo-HSCT (Fig. 1C, $p = 0.031$). The cumulative incidence of atypical SPE was significantly higher when the donor displayed a pre-transplant CMV+ status. These results demonstrated a significant correlation between CMV reactivation and the raise of an atypical SPE profile post allo-HSCT.

We then compared the incidence of acute GVHD between patients with or without atypical SPE profiles. The frequency of all grades acute GVHD was significantly higher in patients with atypical SPE (Table 1, 64% vs 44%, $p = 0.04$). The median time to aGVHD onset was 40 days. Acute GVHD also preceded the onset of atypia in 29 out of 32 patients (Fig. 2A). The cumulative incidence of atypical SPE profiles was significantly higher in patients with acute GVHD compared to the others (Fig. 2B, $p = 0.019$). Of note, no significant difference in the occurrence of chronic GVHD was observed between the two groups (Table 1). The effect of several variables, including gender, viral reactivations, DLI use, acute and chronic GVHD, on atypical SPE incidence was assessed by univariate and multivariate analysis (Table 3). Univariate analysis indicated that CMV reactivation and acute GVHD were the only parameters significantly associated with the occurrence of an atypical SPE (OR=4.44, $p < 0.001$ for CMV reactivation; OR = 2.33, $p = 0.027$ for acute GVH). Further multivariate analysis confirmed that CMV reactivation was the main factor significantly correlated to the occurrence of an atypical SPE profile (OR = 4.09, $p < 0.001$). Considering acute GVHD, the multivariate analysis was close but not significant (OR=2.07, $p = 0.08$). Taken together, these results demonstrated that CMV reactivation, and maybe acute GVHD, could be considered as etiological factors in the appearance of atypical SPE profiles post allo-HSCT.

Impact of atypical spe profiles on time to relapse

To assess the clinical significance of these atypical SPE profiles, we compared the incidence of relapse in patients with and without an atypical SPE profile. We did not observe any significant difference in the cumulative incidence of relapse between the two groups (Fig. 3A). Nevertheless, we can see that the incidence curve of atypical SPE was clearly shifted to the right, suggesting a longer time to relapse than in non-atypical SPE patients. We confirmed this delay in relapse showing that patients with an atypical SPE profile had a significantly longer time to relapse than patients with non-atypical profile (486 days vs 189 days, $p = 0.006$).

Impact of atypical SPE profiles on overall survival

A survival analysis by Cox model, considering SPE as a time-dependent variable, showed a significant difference in OS, between patients who developed an atypical SPE profile or not ($p = 0.03$). The risk of death was 2.3 times lower in patients with atypical SPE compared to those without. Strikingly, we observed on the entire cohort that neither CMV reactivation nor acute GVHD independently impacted OS of the patients (Supplementary Fig. 1, $p = 0.721$ for CMV reactivation and $p = 0.966$ for acute GVHD). Then, we could hypothesize that the longer OS was correlated with the presence of an atypical profile itself. Interestingly, the time to the onset of atypia did not significantly impact overall survival (Supplementary Fig. 2).

Other parameters such as EBV reactivation, DLI use, and chronic GVHD did not impact OS. In multivariate analysis, the presence of an atypical SPE remained the only factor significantly improving OS (HR = 0.52, $p = 0.046$ in univariate analysis; HR = 0.53, $p = 0.05$ in multivariate analysis; Table 4). We further analyzed OS between patients with and without an atypical SPE profile, according to the HLA-matching profile between donor and recipient. We observed that patients who developed an atypical SPE profile experienced a

Table 2
Viral reactivations according to the electrophoretic profile.

Parameters	Atypical SPE (n = 50)	Non atypical SPE (n = 67)	p-value
CMV reactivations (%)	27 (54)	14 (20.9)	0.0002
EBV reactivations (%)	35 (70)	39 (58.2)	0.25
HHV6A/B reactivations (%)	4 (8)	6 (8.95)	0.9

CMV : Cytomegalovirus. EBV : Epstein-Barr virus. HHV6 : Human Herpes virus 6.

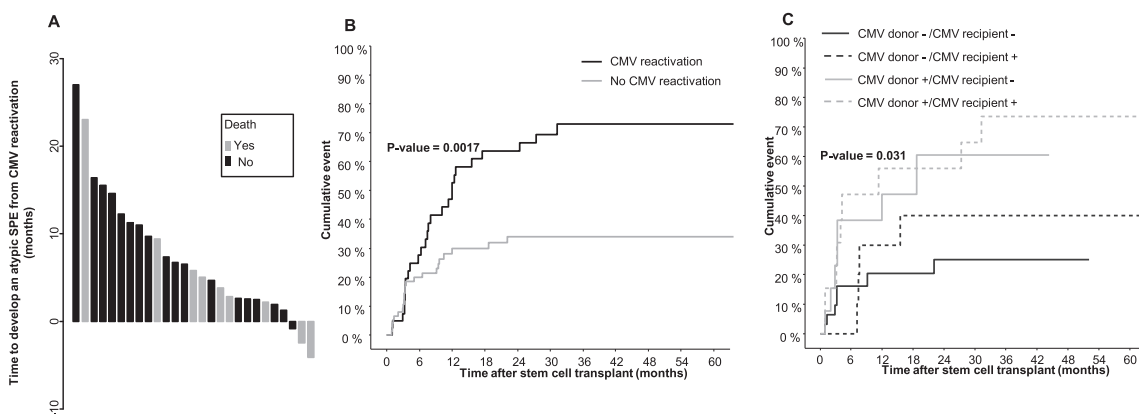


Fig. 1. Impact of CMV status on the development of atypical SPE. **A:** Time to develop an atypical SPE from CMV reactivation. Each bar represents a patient. Gray bars represent dead patients. **B:** Kaplan-Meier analysis of the cumulative incidence of atypical SPE in patients with or without CMV viral reactivations. **C:** Kaplan-Meier analysis of the cumulative incidence of atypical SPE according to CMV compatibility before transplant.

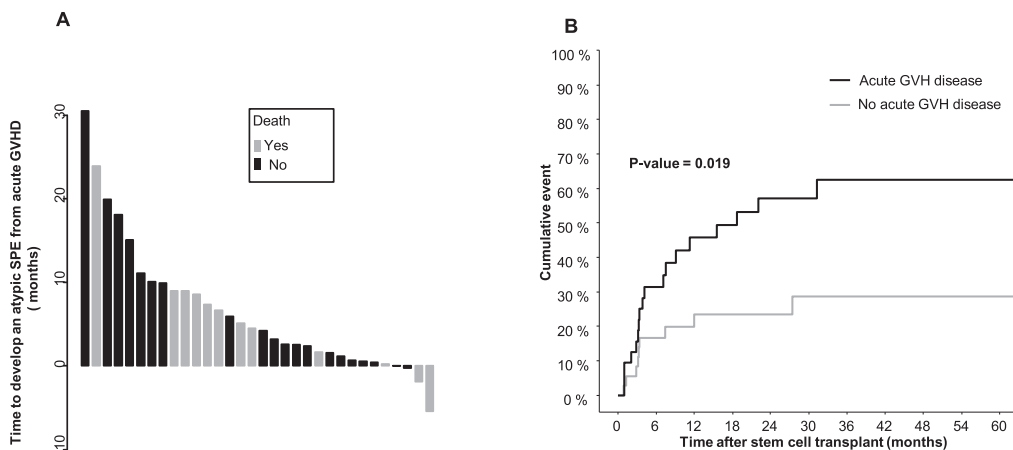


Fig. 2. Impact of acute GVHD on the development of atypical SPE. **A:** Time to develop an atypical PPE from acute GVHD disease. Each bar represents a patient. Gray bars represent dead patients. **B:** Kaplan-Meier analysis of the cumulative incidence of atypical SPE in patients with or without acute GVHD disease.

Table 3
Univariate and multivariate analyzes of atypical SPE incidence.

Variable	Univariate analysis			Multivariate analysis		
	OR	95% CI	p-value	OR	95% CI	p-value
Sexe	0.95	0.44–2.06	0.89			
CMV reactivation	4.44	2.01–10.23	< 0.001	4.09	1.81–9.58	<0.001
EBV reactivation	1.68	0.78–3.70	0.19	1.75	0.76–4.14	0.19
DLI reactivation	0.93	0.39–2.16	0.86			
Acute GVH disease	2.33	1.11–5.02	0.027	2.07	0.93–4.68	0.08
Chronic GVH disease	0.89	0.41–1.89	0.75			

OR: Odd Ratio estimated from Cox proportional regression model. CI: Confidence Interval of the estimated OR.

significant longer OS than patients with non-atypical SPE profile, except in transplantation from HLA-matched siblings (Fig. 4, $p = 0.036$).

Discussion

In this study, we show that atypical SPE profiles occurred in 42.7% of patients with myeloid diseases who received an allo-HSCT, confirming the high incidence of such biological event after

transplantation. A similar incidence has been previously described in few studies evaluating the occurrence of SPE peaks in transplanted patients. Hammarstrom and Smith described monoclonal bands in 18 out of 42 patients after bone marrow transplantation, almost exactly the same ratio as in our study (42.8%) [3]. Mitus et al. were the only ones, to our knowledge, to assess the appearance of both oligoclonal and monoclonal peaks, as we did in our study [2]. They found an incidence of 52%, which is comparable to the 42.7% observed in our cohort [2]. Other studies describe other incidence rates, in different clinical settings from ours. For example, Lim et al., detected 36% of clonal gammopathies in patients receiving a very specific conditioning [7]. Fischer et al., described an incidence of monoclonal gammopathy of 68% in a population of young children [6]. Chiusolo et al. showed abnormalities in the γ -region of SPE in 65.3% of patients presenting EBV reactivation after allo-HSCT [5].

Regarding the possible etiology of such atypical SPE profiles, as in previous studies, we did not find any correlation with age, gender, conditioning regimen, or type of the underlying disease [2,4,8,9].

We reported here a significant correlation with CMV reactivation, which occurred in 54% of the patients developing an atypical SPE profile. These results are comparable to those of Hebart et al., who reported a 50% incidence of CMV reactivation in this context [8].

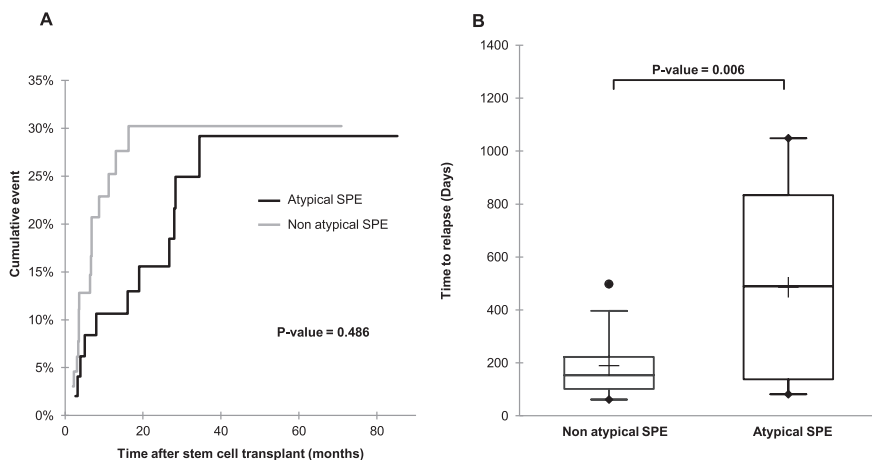


Fig. 3. Impact of the presence of an atypical SPE on relapse. **A:** Kaplan-Meier analysis of the cumulative incidence of relapse in patients with or without atypical SPE. **B:** Fisher test (t-test) to compare the mean time to relapse in patient with or without atypical SPE (alpha = 5%).

Table 4
Univariate and multivariate analyzes of overall survival.

Variable	Univariate analysis			Multivariate analysis		
	HR	95% CI	p-value	HR	95% CI	p-value
Atypical SPE	0.52	0.27–1.00	0.046	0.53	0.28–1.02	0.05
CMV reactivation	1.12	0.47–1.69	0.722			
EBV reactivation	0.57	0.31–1.05	0.07	0.65	0.35–1.21	0.18
DLI use	0.52	0.23–1.16	0.11	0.52	0.22–1.17	0.11
Acute GVH disease	0.9	0.5–1.6	0.78			
Chronic GVH disease	0.69	0.36–1.34	0.279			

HR: Hazard Ratio estimated from Cox proportional hazard regression model. CI: Confidence Interval of the estimated HR.

They could not establish a formal relationship between the appearance of a monoclonal peak and CMV reactivation, probably due to the low number of patients in their study (n = 11) [8]. Lim et al. showed that CMV reactivation preceded the detection of an atypical SPE in most of the cases [7], as we observe here. Some studies of immunocompromised patients transplanted with solid organs also describe a

correlation between CMV reactivation and paraprotein development [10–12]. Strikingly, we demonstrate for the first time that atypical SPE profiles mostly occurred in patients transplanted from a CMV+ donor. Together with the precedence of CMV reactivation, these data strongly suggest that occurrence of an atypical SPE after allo-HSCT highlights a clonal expansion from donor immune cells in reaction to CMV reactivation.

We also show that atypical SPE profiles are associated with acute GVHD. Our results confirm those of two previous studies showing a correlation between the development of GVHD and the development of a monoclonal component [2,9]. Of note, CMV reactivation and acute GVHD had no impact on OS in our study, which is unexpected. The exclusion of patients who died before D100 may have erased unfavorable outcome by excluding early deaths that are commonly observed in severe acute GVHD, or severe viral reactivation. This choice to exclude patients who died early was a necessary condition to focus on atypical SPE outcomes, and to minimize TRM effect. As only a small number of patients had high-grade aGVHD, we analyzed the effect of all-grades GVHD in this cohort, probably also explaining its non-adverse outcome.

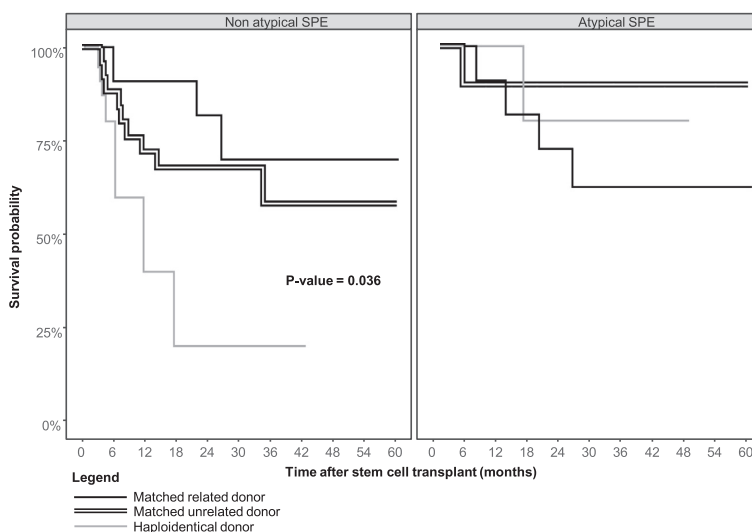


Fig. 4. Impact of the presence of an atypical SPE on Overall Survival (OS). Kaplan-Meier analysis of overall survival (OS) according to HLA compatibility between donor and recipient before the graft, in patient with or without atypical SPE.

In line with previous studies, we show that occurrence of an atypical SPE after allo-HSCT improves the OS [7,9]. This better outcome is also confirmed when classifying patients according to their HLA-matching, especially in non HLA-matched related transplantation. Whether no benefit has been shown on OS for patients transplanted from HLA-matched siblings should be weighted by their particular good prognosis, widely confirmed in the literature [13].

Finally, we also show for the first time that occurrence of an atypical SPE after allo-HSCT delays the relapse of the underlying malignant disease. First, it may explain in part the better prognosis associated with this biological event. Then, it may highlight an underlying Graft versus Leukemia (GVL) effect which is the main purpose of allo-HSCT. This hypothesis is strengthened by the significant correlation between atypical SPE and all grades acute GVHD which is often thought to be the reflect of an immune response after allo-HSCT [14–16].

As exposure to specific post-transplant events such as CMV reactivation or acute GVHD can promote immune response, we assume from our work that atypical SPE arise in reaction to an immunological trigger [4,7,8,17]. CMV reactivation may lead to targeted clonal expansion of anti-CMV immune cells from previously immunised donor cells, resolving in part the higher incidence of atypical SPE profiles after allo-HSCT from CMV+ donors and after CMV reactivation. Acute GVHD may also trigger atypical SPE occurrence, possibly reflecting an underlying efficient GVL effect that could explain in part the delayed time to relapse we observe here. Whatever its underlying origin, the occurrence of an atypical SPE seems to improve patient outcomes.

Conclusion

The presence of monoclonal or oligoclonal components on SPE, after allo-HSCT, may reflect an adapted post-transplant immune response, as an anti-CMV clonal expansion from pre-immunized donor cells, and/or reflect both GVH and GVL activity, leading to favourable outcomes. This work provides insight to clinicians that atypical SPE profiles are common, benign and associated with an improved prognosis after allo-HSCT.

Declaration of Competing Interest

None.

Acknowledgments

The authors are grateful for the financial support received from 'Ligue Contre le Cancer', and 'CHU Amiens'.

Supplementary materials

Supplementary material associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.retram.2021.103322.

References

- [1] Tsirigotis P, Byrne M, Schmid C, Baron F, Ciceri F, Esteve J, et al. Relapse of AML after hematopoietic stem cell transplantation: methods of monitoring and preventive strategies. A review from the ALWP of the EBMT. *Bone Marrow Transpl* 2016;51:1431–8. doi: 10.1038/bmt.2016.167.
- [2] Mitus AJ, Stein R, Rapoport JM, Antin JH, Weinstein HJ, Alper CA, et al. Monoclonal and oligoclonal gammopathy after bone marrow transplantation. *Blood* 1989;74:2764–8.
- [3] Hammarström L, Smith CI. Frequent occurrence of monoclonal gammopathies with an imbalanced light-chain ratio following bone marrow transplantation. *Transplantation* 1987;43:447–9. doi: 10.1097/00007890-198703000-00028.
- [4] Nagashima T, Muroi K, Kawano-Yamamoto C, Komatsu N, Ozawa K. Paraproteinemia after hematopoietic stem cell transplantation. *Leuk Lymphoma* 2004;45:135–7. doi: 10.1080/1042819031000139729.
- [5] Chiusolo P, Metafuni E, Cattani P, Piccirillo N, Santangelo R, Manzara S, et al. Prospective evaluation of Epstein–Barr virus reactivation after stem cell transplantation: association with monoclonal gammopathy. *J Clin Immunol* 2010;30:894–902. doi: 10.1007/s10875-010-9454-x.
- [6] Fischer AM, Simon F, Le Deist F, Blanche S, Griscelli C, Fischer A. Prospective study of the occurrence of monoclonal gammopathies following bone marrow transplantation in young children. *Transplantation* 1990;49:731–5. doi: 10.1097/00007890-199004000-00015.
- [7] Lim ZY, Ingram W, Brand R, Akthari M, Milojkovic D, Ho AYL, et al. Clonal gammopathies following alemtuzumab-based reduced intensity conditioning haematopoietic stem cell transplantation: association with chronic graft-versus-host disease and improved overall survival. *Bone Marrow Transpl* 2007;40:747–52. doi: 10.1038/sj.bmt.1705805.
- [8] Hebart H, Einsele H, Klein R, Fischer I, Bühler S, Dietz K, et al. CMV infection after allogeneic bone marrow transplantations is associated with the occurrence of various autoantibodies and monoclonal gammopathies. *Br J Haematol* 1996;95:138–44. doi: 10.1046/j.1365-2141.1996.7592380.x.
- [9] Widmer CC, Balabanov S, Schanz U, Theodoridis APA. Transient paraproteinemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is an underexplored phenomenon associated with graft versus host disease. *Oncotarget* 2017;8:106333–41. doi: 10.18632/oncotarget.22462.
- [10] Bühler S, Laitinen K, Holthöfer H, Järvinen A, Schauman K, Hedman K. High rate of monoclonal gammopathy among immunocompetent subjects with primary cytomegalovirus infection. *Clin Infect Dis* 2002;35:1430–3. doi: 10.1086/344465.
- [11] Drouot E, Chapuis-Cellier C, Bosshard S, Verniol C, Niveleau A, Touraine JL, et al. Oligo-monoclonal immunoglobulins frequently develop during concurrent cytomegalovirus (CMV) and Epstein–Barr virus (EBV) infections in patients after renal transplantation. *Clin Exp Immunol* 1999;8.
- [12] Pageaux G-P, Bonnardet A, Picot M-C, Perrigault P-F, Coste V, Navarro F, et al. Prevalence of monoclonal immunoglobulines after liver transplantation: relationship with posttransplant lymphoproliferative disorders. *Transplantation* 1998;65:397–400. doi: 10.1097/00007890-199802150-00018.
- [13] Shaw BE, Arguello R, Garcia-Sepulveda CA, Madrigal JA. The impact of HLA genotyping on survival following unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation: review. *Br J Haematol* 2010;150:251–8. doi: 10.1111/j.1365-2141.2010.08224.x.
- [14] Blazar BR, Hill GR, Murphy WJ. Dissecting the biology of allogeneic HSCT to enhance the GvT effect whilst minimizing GVHD. *Nat Rev Clin Oncol* 2020;17:475–92. doi: 10.1038/s41571-020-0356-4.
- [15] Blazar BR, Murphy WJ, Abedi M. Advances in graft-versus-host disease biology and therapy. *Nat Rev Immunol* 2012;12:443–58. doi: 10.1038/nri3212.
- [16] Markey KA, MacDonald KPA, Hill GR. The biology of graft-versus-host disease: experimental systems instructing clinical practice. *Blood* 2014;124:354–62. doi: 10.1182/blood-2014-02-514745.
- [17] Paloczi K. Immune reconstitution: an important component of a successful allogeneic transplantation. *Immunol Lett* 2000;74:177–81. doi: 10.1016/S0165-2478(00)00270-4.

Annexe 2 : Conditionnements de l'allogreffe (source CHU Amiens)

Indications		Conditionnement	Posologie	Chronologie
LAM-MDS LNH haut grade-Lymphome T Leucémie PDC « Conditionnement BUSULFAN-ENDOXAN (allogreffe Géno) »		Busulfan IV	3.2mg/kg/jour	J-7 à J-4
		Endoxan	60 mg/kg/jour	J-3 à J-2
LAM-MDS LNH haut grade-Lymphome T Leucémie PDC « Conditionnement BUSULFAN-ENDOXAN (allogreffe Phéno) »		Busulfan IV	3.2mg/kg/jour	J-9 à J-6
		Endoxan	60 mg/kg/jour	J-5 à J-4
		Sérum anti-lymphocytaire (Thymo globulines®)	2,5 mg/kg/jour	J-3 à J-2.
Indications	Conditionnement	Posologie	« Conditionnement ICT-ENDOXAN (allogreffe Géno) »	« Conditionnement ENDOXAN- ICT 12 Gy (allogreffe Géno) »
LAL LNH haut grade-Lymphome T	ICT	12Gy sur 3 jours	J-6 à J-4	J-3 à J-1
	Endoxan	60 mg/kg/jour	J-3 à J-2	J-5 à J-4
LAL LNH haut grade-Lymphome T « Conditionnement ICT-ENDOXAN (allogreffe Phénoidentique) »		ICT	12Gy sur 3 jours	J-8 à J-6
		Endoxan	60 mg/kg/jour	J-5 à J-4
		Sérum anti-lymphocytaire (Thymo globulines®)	2,5 mg/kg par jour	J-3 à J-2.
Indications	Conditionnement	Posologie	Chronologie	
LAM-MDS haut risque - LAM réfractaires ou avec maladies résiduelle positive - LAM en rechute après RC2	Clofarabine	30 mg/m ² /jour	J-14 à J-10	
	Aracytine	1000 mg/m ² /jour	J-14 à J-10	
	Endoxan	60 mg/kg	J-6	
	Busulfan IV	3.2 mg/kg/jour	J-5 et J-4	
	Sérum anti-lymphocytaire (Thymoglobulines®)	2.5 mg/kg/jour	J-3 et J-2	
Indications	Conditionnement	Posologie	Chronologie	
LAM réfractaires avec un patient ayant reçu antérieurement de la Clofarabine et/ou présentant un atteinte méningée - LAL réfractaires ou leucémies aiguës bi phénotypiques réfractaires « Conditionnement TEC- RIC »	Thiotepa	5 mg/kg/jour	J-13 et J-12	
	Endoxan	400 mg/m ² /jour	J-11 à J-8	
	Etoposide	100 mg/m ² /jour	J-11 à J-8	
	Fludarabine	30 mg/m ² /jour	J-5 à J-1	
	Busulfan IV	3.2 mg/kg/jour	J-5 et J-4	
	Sérum anti-lymphocytaire (Thymoglobulines®)	2.5 mg/kg/jour	J-3 et J-2	
Indications	Conditionnement	Posologie	Chronologie	
LAM haut risque du protocole BIG 1 « Conditionnement SEQUENTIEL FLAMSA (allogreffe protocole BIG) »	Fludarabine	30mg/m ² /jour	J-13 à J-10	
	Cytarabine	2g/m ² /jour	J-13 à J-10	
	Amsacrine	100mg/ m ² /jour	J-13 à J-10	
	Busulfan IV	3.2 mg/kg/jour	J-6 et J-5	
	Endoxan	50 mg/kg/jour	J-4 et J-3	
	Sérum anti-lymphocytaire (Thymoglobulines®)	2.5 mg/kg/jour	J-3 et J-2	
Indications	Conditionnement	Posologie	Chronologie	
Hémopathies myéloïdes « Conditionnement FLUDARABINE-BUSULFAN (FB4) »	Fludarabine	30 mg/m ² /jour	J-7 à J-3	
	Busulfan IV	3.2 mg/kg/jour	J-7 à J-4	
	Sérum anti-lymphocytaire (Thymoglobulines®)	2,5 mg/kg par jour	J-3 à J-2.	
Indications	Conditionnement	Posologie	Chronologie	
LAL chromosome philadelphie positif (BCR ABL+) « Conditionnement FLUDA-ICT (allogreffe GENO) »	Fludarabine	30 mg/m ² /jour	J-6 à J-3	
	ICT	12 ou 8Gy au total	12Gy Gy : J-3 à J-1 8 Gy : J-3 et J-2	
Indications	Conditionnement	Posologie	Chronologie	
LAL chromosome philadelphie positif (BCR ABL+) « Conditionnement FLUDA-ICT (allogreffe PHENO) »	Fludarabine	30 mg/m ² /jour	J-8 à J-5	
	ICT	2 X 2 Gy/jour (12 ou 8Gy au total)	12Gy Gy : J-6 à J-4 8 Gy : J-5 et J-4	
	Sérum anti-lymphocytaire (Thymoglobulines®)	2,5 mg/kg/jour	J-3 à J-2.	
Indications	Conditionnement	Posologie	Chronologie	
Hémopathies lymphoïdes à haut risque « Conditionnement ENDOXAN FLUDARABINE-ICT 2Gy (allo HAPLO) »	Endoxan	14.5 mg/kg/jour	J-6 et J-5	
	Fludarabine	30mg/m ² /jour	J-6 à J-2	
	ICT	2 Gy	J-1	
Indications	Conditionnement	Posologie	Chronologie	
Hémopathies à haut risque : leucémies aiguës, myélodysplasies « Conditionnement TBF sans SAL (allogreffe HAPLO) »	Thiotepa	5 mg/kg/jour	J-7 à J-6	
	Fludarabine	40mg/m ² /jour	J-5 à J-2	
	Busulfan IV	3.2 mg/kg/jour	J-5 à J-3	
Indications	Conditionnement	Posologie	Chronologie	
Leucémies aiguës réfractaires « Conditionnement TEC-RIC sans SAL (allogreffe HAPLOIDENTIQUE) »	Thiotepa	5 mg/kg/jour	J-13 et J-12	
	Endoxan	400mg/m ² /jour	J-11 à J-8	
	Etoposide	100mg/m ² /jour	J-11 à J-8	
	Fludarabine	30mg/m ² /jour	J-5 à J-1	
	Busulfan IV	3.2 mg/kg/jour	J-5 et J-4	
Indications	Conditionnement	Posologie	Chronologie	
Hémopathies à haut risque : leucémies aiguës, myélodysplasies « Conditionnement TBF REDUIT (allogreffe HAPLO) »	Thiotepa	5 mg/kg/jour	J-6	
	Fludarabine	40mg/m ² /jour	J-5 à J-2	
	Busulfan IV	3.2 mg/kg/jour	J-5 à J-4	

Annexe 3: Indications de l'allogreffe (Source CHU Amiens) :

Hémopathie	Statut de l'hémopathie	Génoïdétique	Phénoïdétique 10/10	Greffe alternative : Haplo-identique en 1 ^{ère} intention
LAM	RC1 faible risqué	Option clinique	Option clinique	Non recommandé
	RC1 intermédiaire	Standard	Standard	Option clinique
	RC1 haut risque	Standard	Standard	Option clinique
	RC2	Standard	Standard	Option clinique
	Rechute/réfractaire	Standard	Standard	Option clinique
LAM 3	Persistence moléculaire	Option clinique	Option clinique	Non recommandé
	RC2	Option clinique	Option clinique	Option clinique
LAL et Lymphome lymphoblastique	RC1 (bas risque selon MRD)	Non recommandé	Non recommandé	Non recommandé
	RC1 (haut risque selon MRD)	Standard	Standard	Option clinique
	RC2	Standard	Standard	Option clinique
	réfractaire	Non recommandé	Non recommandé	Non recommandé
LMC	1 ^{ère} Phase Chronique avec échec de TK1, 2, 3 et 4	Standard	Standard	Option clinique
	Phase accélérée	Standard	Standard	Option clinique
	Phase blastique	Standard	Standard	Option clinique
Myélofibrose	Primitive ou secondaire avec DIPSS ≥ 2	Standard	Standard	Expérimental
Myélodysplasie	IPSS bas ou intermédiaire 1	Expérimental	Expérimental	Non recommandé
	IPSS intermédiaire 2 ou élevé	Standard	Standard	Option clinique
LLC	Risque élevé après échec des inhibiteurs de BTK et de Bcl-2	Option clinique	Option clinique	Option clinique
Lymphome B diffusGC	RC1 et RC2 (IPI int-élevé)	Non recommandé	Non recommandé	Non recommandé
	> RC2	Option clinique	Option clinique	Option clinique
	Réfractaire chimio-sensible RP	Expérimental	Expérimental	Expérimental
Lymphome à cellules du manteau	RC1	Non recommandé	Non recommandé	Non recommandé
	\geq RC2	Option clinique	Option clinique	Option clinique
	Réfractaire chimiosensible RP	Non recommandé	Non recommandé	Expérimental
Lymphome de Burkitt	RC1	Non recommandé	Non recommandé	Non recommandé
	\geq RC2	Option clinique	Option clinique	Option clinique
	Réfractaire chimio-sensible RP	Non recommandé	Non recommandé	Expérimental
Lymphome folliculaire	RC1	Non recommandé	Non recommandé	Non recommandé
	>RC2	Option clinique	Option clinique	Option clinique
	Réfractaire chimio-sensible RP	Non recommandé	Non recommandé	Expérimental
LNH T	RC1	Option clinique	Option clinique	Non recommandé
	\geq RC2	Option clinique	Option clinique	Option clinique
	Réfractaire chimio-sensible RP	Non recommandé	Non recommandé	Expérimental
Lymphome de Hodgkin	RC1	Non recommandé	Non recommandé	Non recommandé
	Rechute chimio/immuno sensible > RC2	Option clinique	Option clinique	Option clinique
	Réfractaire	Expérimental	Expérimental	Expérimental
Myélome	Risque standard	Non recommandé	Non recommandé	Non recommandé
	Leucémie à plasmocytes	Non recommandé	Non recommandé	Non recommandé
	Haut risque (del17p, rechute précoce post-auto)	Non recommandé	Non recommandé	Non recommandé

Auteur : HEDHLI Kaies

TITRE DE LA THESE : Incidence, étiologie et impact pronostique des profils électrophorétiques atypiques, chez les patients atteints de pathologie myéloïde recevant une allogreffe de Cellules Souches Hématopoïétiques

Contexte : Des profils d'électrophorèse des protéines sériques (EPS) « atypiques » apparaissent fréquemment chez les patients ayant reçu une greffe de cellules souches hématopoïétiques allogéniques (allo-HSCT). L'origine et la signification clinique de ces profils atypiques restent à éclaircir. Ils combinent des composants monoclonaux et oligoclonaux, observés à l'EPS et confirmés par immunofixation.

Objectifs : L'objectif de l'étude est d'analyser l'incidence, l'étiologie et le rôle pronostique des profils d'EPS atypiques, chez des patients ayant reçu une allo-HSCT.

Conception de l'étude : Cette étude rétrospective a inclus 117 patients atteints d'une hémopathie myéloïde et ayant reçu une allo-HSCT entre 2012 et 2018 au CHU d'Amiens. Les patients atteints d'hémopathies lymphoïdes, les patients atteints de myélome multiple, les patients présentant une EPS atypique avant la transplantation et les patients décédés dans les 100 jours suivant la transplantation ont été exclus.

Résultats : Une EPS atypique est survenue chez 42,7 % des patients. L'incidence cumulative des profils atypiques était significativement plus élevée chez les patients présentant une maladie du greffon contre l'hôte (GVHD, $p=0,019$) et chez les patients présentant une réactivation du CMV ($p=0,0017$). De manière intéressante, il a été observé pour la première fois que les profils d'EPS atypiques apparaissaient principalement chez les patients greffés à partir d'un donneur CMV+ ($p=0,031$). La réactivation du CMV a précédé l'apparition d'une EPS atypique chez la majorité des patients. Notre étude a montré que l'EPS atypique retardait la rechute de la maladie maligne sous-jacente (486 vs 189 jours, $p=0,006$), et améliorait significativement la survie globale (OS ; 33,1 mois vs 28,3 mois, $p=0,049$). Les analyses univariées et multivariées ont montré que la présence d'une EPS atypique était le seul facteur significativement corrélé à l'amélioration de la survie globale.

Conclusions : La présence de composants monoclonaux ou oligoclonaux sur l'EPS, après une allo-HSCT, semble témoigner d'une réponse immunitaire post-greffe efficace. Celle-ci pourrait être liée à une expansion clonale anti-CMV à partir de cellules de donneur pré-immunisées, et/ou refléter à la fois l'activité GVH et GVL, conduisant à des résultats favorables. Cette étude apporte aux cliniciens de nouvelles perspectives concernant l'interprétation des EPS, en montrant que les profils atypiques sont courants, bénins et associés à une amélioration du pronostic après une allo-HSCT.

MOTS-CLES : Hémopathie myéloïde, Électrophorèse, Pics monoclonaux, Allogreffe CSH

TITLE: Beneficial outcomes and epidemiologic of atypical electrophoretic profiles arising after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for myeloid malignancies

Background : Atypical serum protein electrophoresis (SPE) profiles may arise in patients who received allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT), but little is known about their clinical significance. Atypical SPE combine either monoclonal and oligoclonal components, suspected on SPE and confirmed by immunofixation.

Objectives : The aim of the study is to analyse the incidence, the etiology and the prognosis of atypical SPE profiles in patients who received allo-HSCT to treat myeloid malignancies.

Study design : This retrospective study enrolled 117 patients with myeloid disease who received an allo-HSCT between 2012 and 2018. We excluded patients with lymphoid malignancies, patients with multiple myeloma, patients presenting atypical electrophoresis prior to transplantation and patients who died within 100 days post-transplant.

Results : Atypical SPE occurred in 42.7% of patients. The cumulative incidence of atypical profiles was significantly higher in patients with acute Graft Versus Host Disease (GVHD, $p=0.019$) and in patients with CMV reactivation ($p=0.0017$). Strikingly, we observed for the first time that atypical SPE profiles mostly occurred in patients transplanted from a CMV+ donor ($p=0.031$). CMV reactivation preceded the occurrence of atypical SPE in the majority of patients. We showed that atypical SPE delay the relapse of the underlying malignant disease (486 vs 189 days, $p=0.006$), and significantly improve overall survival (OS ; 33.1 months vs 28.3 months, $p=0.049$). In both univariate and multivariate analyses, the presence of an atypical SPE was the only factor that significantly improves OS.

Conclusions : The presence of monoclonal or oligoclonal components on SPE, after allo-HSCT, may reflect an adapted post-transplant immune response, as an anti-CMV clonal expansion from pre-immunized donor cells, and/or reflect both GVH and GVL activity, leading to favourable outcomes. This work provides new insights for clinicians that atypical SPE profiles are common, benign and associated with an improved prognosis after allo-HSCT.

Keywords: Myeloid malignancies, Electrophoresis, monoclonal component, allo-HSCT

PRÉSIDENT DU JURY : Monsieur le Professeur Antoine Galmiche

DIRECTEUR DE THESE : Madame le Docteur Chloé Sauzay

MEMBRES DU JURY : Madame le Docteur Delphine Lebon

Monsieur le Docteur Thomas Boyer

Monsieur le Docteur Étienne Brochot

DATE ET LIEU DE SOUTENANCE : 12 mai 2022