

L'hémoglobinurie paroxystique nocturne

E.-M. HAMOUCHE¹

RÉSUMÉ

L'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN) est une maladie clonale acquise de la cellule souche hématopoïétique. Elle est responsable d'anémie hémolytique, de thromboses (essentiellement veineuses abdominales et cérébrales) et d'insuffisance médullaire. De petits clones HPN sont fréquemment retrouvés dans les aplasies médullaires, et moins fréquemment dans les syndromes myélodysplasiques. L'HPN peut évoluer, mais rarement, en leucémie aiguë. La première cause de mortalité de cette maladie reste la thrombose et sa survenue est un facteur de mauvais pronostic. Cependant, celui-ci s'est nettement amélioré par une meilleure connaissance physiopathologique de la maladie à la base de l'introduction de l'écilizumab, un anticorps monoclonal ciblant la fraction C5 du complément.

MOTS-CLÉS : hémoglobinurie, paroxystique, nocturne, cytométrie, ecilizumab.

I. - INTRODUCTION

L'hémoglobinurie nocturne paroxystique (HPN) a été décrite durant la deuxième moitié du XIX^{ème} siècle par le symptôme « urines foncées nocturnes », attribué plus tard à l'hémoglobinurie. Le tableau clinique de cette pathologie a été ultérieurement défini par Marchiafava et Micheli qui ont donné leurs noms à cette maladie (1). C'est une maladie acquise de la cellule souche hématopoïétique dans laquelle une mutation somatique du gène *PIG-A*, situé sur le chromosome X, provoque un déficit total ou partiel de toutes les protéines liées à la membrane cellulaire par une ancre glycoposphatidylinositol ou GPI (2). Elle est rare, son incidence annuelle étant estimée à 1,3 cas par million d'habitants, et elle touche essentiellement des sujets caucasiens jeunes, l'âge médian de son diagnostic étant de 32 ans (3).

II. - PHYSIOPATHOLOGIE DE L'HPN

Les premières anomalies biochimiques décrites dans l'HPN étaient des déficits enzymatiques (phosphatase alcaline, puis acétylcholinestérase), mais la première molécule qui pouvait en expliquer la physiopathologie était le CD55 ou DAF (*Decay Accelerating Factor*). Cependant, des observations expérimentales avaient suggéré

ultérieurement un rôle mineur de CD55 dans l'hémolyse, essentiellement extravasculaire, alors qu'elles concouraient à démontrer le rôle prépondérant de CD59 ou MIRL (*Membrane Inhibitor of Reactive Lysis*) à la fois dans la physiopathologie de l'hémolyse intravasculaire et de la thrombose (4, 5). Depuis, plusieurs dizaines de protéines déficientes ont été identifiées, notamment des protéines intervenant dans la fibrinolyse (TFPI pour *Tissue Factor Pathway Inhibitor* ; uPAR pour *urokinase-type-plasminogen activator receptor*) (6), l'apoptose (7), ou associées aux groupes sanguins (8).

A) L'hémolyse

Le rôle central du déficit érythrocytaire en CD59 dans la survenue de l'hémolyse a été suggéré par les observations expérimentales suivantes :

- Les souris déficientes en CD59 développent une hémolyse intravasculaire spontanée, responsable d'anémie (9) ;
- L'inhibition fonctionnelle de CD59 est associée à une sensibilité accrue des hématies à l'action hémolytique du complément (10) ;

¹ Médecin Biologiste, Centre Médical Libano-Canadien, Beyrouth, Liban.

- La réinsertion de CD59 dans les cellules HPN conduit à leur résistance au complément (11) ;
- Les globules rouges d'un patient génétiquement déficient en CD59 sont aussi sensibles à la lyse par le complément que les cellules HPN (12).

En même temps, l'inhibition de l'activité de CD55 ou du DAF par un anticorps monoclonal augmente très légèrement l'hémolyse (13), et les cellules dépourvues de CD55 membranaire sont résistantes *in vitro* à la lyse par le complément (14).

B) La thrombose

Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer l'incidence augmentée des thromboses vasculaires dans l'HPN (6). En résumé, l'activation continue du complément à la surface plaquettaire provoque l'élimination du complexe d'attaque membranaire par vésiculation. Les vésicules libérées sont thrombogènes, car elles sont riches en phosphatidylsérine et peuvent fixer le facteur V et servir de site d'assemblage du complexe prothrombinase. La thrombine générée se lie à son récepteur plaquettaire, provoquant l'activation puis l'agrégation des plaquettes ; elle transforme aussi le fibrinogène en fibrine. Ceci pourrait être le mécanisme initiateur de la formation du thrombus (15). Par ailleurs, l'hémolyse intravasculaire provoque une dysfonction endothéliale par toxicité directe de l'hémoglobine libre et déplétion en oxyde nitrique (NO) de la cellule endothéliale. Les cellules endothéliales stimulées produisent de grandes quantités de facteur Willebrand et de facteur VIII, et expriment l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène (PAI-1) et le facteur tissulaire. Les fragments d'hémolyse sont également pourvoyeurs de microparticules thrombogènes. S'y ajoute le déficit en anticoagulants et fibrinolytiques physiologiques comportant une ancre GPI tels uPAR, TFPI, PR3 (pour *proteinase 3*) et l'héparane sulfate. L'activation continue du complément stimule aussi la production de cytokines inflammatoires telles l'IL6 et le TNF, via la fraction C5a, avec comme résultante une augmentation de la protéine régulatrice du complément C4BP, une diminution de la protéine S libre, ainsi qu'une altération de l'activité de ADAMTS-13, la métalloprotéase clivant les multimères du facteur Willebrand (6, 16).

C) L'insuffisance médullaire

Sa physiopathologie est moins élucidée. Une théorie de « double-hit » semble admise : la mutation *PIG-A*, ou « premier hit », sélectionne le clone HNP dans un environnement d'insuffisance médullaire, mais elle est insuffisante pour favoriser l'expansion clonale ; cette dernière nécessiterait un second évènement conférant un avantage de survie et de prolifération au clone HNP (17). Le micro-environnement auto-immun ou dysimmun de la moelle osseuse, objectivé par l'association fréquente (20-57 % des cas) d'un petit clone HNP avec l'aplasie médullaire, la régression des cytopénies sous traitement immunosuppresseurs et la prolifération oligoclonale T, ainsi que la résistance à l'apoptose et à la destruction par les lymphocytes T de la cellule souche hématopoïétique *PIG-A* mutée,

concourent à donner cet avantage de survie au clone HPN qui réprime ainsi les progéniteurs médullaires et conduit progressivement aux cytopénies (7, 18).

III. - MANIFESTATIONS CLINIQUES DE LA MALADIE

La présentation classique, c'est-à-dire une émission matinale d'urines foncées chez un sujet jeune, n'est pas la plus fréquente, et en dépit du polymorphisme clinique de la maladie, les trois symptômes majeurs restent l'hémolyse, les thromboses et les cytopénies. En 2008, la Société Française d'Hématologie a individualisé trois catégories de malades selon leur tableau clinique et le pronostic de la maladie. La première regroupe des patients jeunes (âge médian = 34,5 ans) chez lesquels est décelé un petit clone HPN dans un contexte d'aplasie médullaire et/ou de pancytopenie ; la survie globale de ces malades à 10 ans est de 74 %, mais leur espérance de vie reste similaire à celle de la population « normale » du même âge. La seconde catégorie, dite HPN classique, comprend des sujets plus âgés (âge médian = 40,6 ans) chez lesquels un clone HPN plus important (ou de taille plus importante) est découvert à l'occasion d'hémolyse, de thromboses, d'infections et/ou de douleurs abdominales ; leur survie à 10 ans est de 75 %, mais leur espérance de vie est raccourcie. Enfin, la troisième catégorie dite « HPN intermédiaire » rassemble les patients ne remplissant pas les critères des deux premières, mais l'incidence cumulée des bi et pancytopenies chez ces malades est superposable à celle retrouvée dans le groupe HPN-aplasie médullaire et leur survie à 10 ans est de 82 % (19).

A) Le syndrome hémolytique

Sur fond d'hémolyse chronique surviennent des crises hémolytiques paroxystiques et il existe une corrélation linéaire entre la taille du clone HPN et le taux sérique de lactico-déshydrogénase, témoin de l'hémolyse (20). Responsable d'anémie corpusculaire régénérative, l'hémolyse est également impliquée dans l'insuffisance rénale, aiguë en cas d'hémolyse massive et/ou chronique par tubulopathie proximale et néphropathie interstitielle secondaires à la sidérose rénale par élimination du fer de l'hémoglobine et micro-infarctus veineux récurrents (21). Une autre conséquence de l'hémolyse est l'anomalie de relaxation des muscles lisses, secondaire à une déplétion en NO par l'hémoglobine libre et incriminée dans la survenue de symptômes tels que la dysphagie, les douleurs abdominales, le dysfonctionnement érectile et l'hypertension artérielle pulmonaire (22). Enfin, environ 80 % des malades éprouvent une fatigue, très vraisemblablement liée à l'hémolyse, rapidement réversible sous eculizumab (23).

B) La thrombose

C'est la première cause de mortalité de la maladie de Marchiafava-Micheli et sa survenue représente le facteur pronostic le plus défavorable. Vingt-neuf à 44 % des

patients atteints d'HPN feront un épisode thrombotique au cours de l'évolution de leur maladie (6), et celui-ci est inaugural chez un malade sur 10 (24). Bien que le risque semble corrélé avec la taille du clone, l'incidence des thromboses reste élevée chez les sujets ayant des clones HNP représentant moins de 10 % des polynucléaires neutrophiles (6). Ces complications surviennent dans des sites inhabituels et ont tendance à récidiver au même endroit. Par ordre de fréquence, les veines sus-hépatiques, intracérébrales et intra-abdominales sont les plus touchées. Les autres sites inhabituels décrits sont l'épiderme, le derme, le rein, l'épididyme et le corps caverneux. Dans leurs localisations sus-hépatiques, les thromboses sont à l'origine d'un syndrome de Budd-Chiari, souvent récidivant et évoluant vers la cirrhose. Les thromboses des veines et sinus intracérébraux peuvent donner des tableaux insidieux (céphalées traînantes), ou très aigus (syndrome méningé). Les thromboses intra-abdominales (veine porte, veines spléniques et veine cave inférieure) se compliquent souvent d'hypersplénisme, plus rarement de rupture de la rate, d'ulcérations muqueuses et de douleurs abdominales (6, 19, 24). Quant aux thromboses artérielles, elles sont observées chez 1-10 % des patients, à des sites habituels, notamment dans les artères coronaires et cérébrales (16).

C) L'insuffisance médullaire

Dans la publication récente du registre international des patients ayant un clone HNP, 48 % d'entre eux présentaient une forme d'insuffisance médullaire : aplasie, anémie hypoplasique ou myélodysplasie (3). Il semblerait que, même en l'absence de cytopénies, les cultures de cellules médullaires montrent une diminution de la croissance des progéniteurs (25). Deux tiers des patients présenteront une neutropénie et/ou une thrombopénie au cours de l'évolution de leur maladie (19). Il existe également une association fréquente entre l'HNP et l'aplasie de moelle et l'on met très souvent en évidence de petits clones HNP chez des patients ayant une aplasie – plus de 50 % des patients – surtout après traitement par immunosuppresseurs (20). Moins souvent, de petits clones HNP sont retrouvés dans les syndromes myélodysplasiques, notamment dans l'anémie réfractaire. Enfin, sur 100 patients ayant une HPN et suivis sur 10 ans, 3,8 % développeront un syndrome myélodysplasique et/ou une leucémie aiguë (19).

IV. - DÉMARCHE DIAGNOSTIQUE

Les manifestations cliniques de l'HNP (anémie, fatigue, thromboses) sont tellement fréquentes qu'il serait inapproprié de rechercher un clone HNP chez tous les patients présentant ces symptômes, étant donné la rareté de la maladie. Une liste de situations cliniques où il serait pertinent de prescrire une recherche de clone HNP a été proposée : hémolyse intravasculaire objectivée par une hémoglobinurie ; hémolyse non immune ou à test de Coombs négatif, non mécanique (absence de schizocytes) ; hémolyse avec

thrombose ou cytopénie ; thrombose avec hémolyse ou cytopénie ; thrombose à des sites inhabituels ; aplasie médullaire ; anémie réfractaire (26).

Avant l'avènement de la cytométrie en flux, le diagnostic biologique de confirmation reposait essentiellement sur le test d'Ham-Dacie (test d'hémolyse en sérum acidifié), actuellement abandonné du fait de son manque de spécificité et de sensibilité. D'autres examens biologiques ont également été proposés : test d'hémolyse au sucrose (1966), très sensible mais peu spécifique, puis test de lyse au complément (1973) qui est sensible et spécifique mais techniquement laborieux et difficile à standardiser (1). Le diagnostic repose actuellement sur la mise en évidence d'un clone HPN par cytométrie de flux. Tout ce qui suit concerne la recherche des clones HNP par cette technique.

A) Conditions préanalytiques

La recherche de clones HNP doit se faire à partir du sang périphérique, non seulement du fait de la facilité de son obtention, mais aussi parce que l'expression des marqueurs liés à une ancre GPI est variable selon le stade de maturation des cellules dans la moelle osseuse. L'anticoagulant de choix est l'EDTA. L'échantillon sanguin doit être analysé rapidement après sa collecte, même si les globules blancs et les globules rouges restent stables deux et sept jours, respectivement, à 4 °C. Le dépistage des cellules déficitaires ne doit pas se limiter à l'analyse des hématies, car l'hémolyse et les transfusions sanguines peuvent sous-estimer la taille du clone. Par ailleurs, des clones érythrocytaires significatifs ne sont jamais observés en l'absence de clones leucocytaires. La détection doit donc se faire également sur les leucocytes (polynucléaires neutrophiles et/ou monocytes). Les analyses érythrocytaires sont impératives pour déceler un éventuel déficit partiel (plus repérable sur les globules rouges). Par ailleurs, l'étude comparative de la taille du clone érythrocytaire et leucocytaire peut apporter des informations cliniques pertinentes notamment sur l'importance de l'hémolyse. Pour les protocoles de haute sensibilité, il est préconisé de réaliser l'analyse sur deux lignées cellulaires (exemple : polynucléaires neutrophiles et hématies, ou polynucléaires neutrophiles et monocytes). L'étude des lymphocytes n'est pas recommandée du fait de la variabilité d'expression des marqueurs GPI-liés à leur surface.

B) Marquage, acquisition et analyse

Pour l'analyse des globules rouges par cytométrie, un marqueur de lignée, la glycophorine A ou CD235a, est recommandé pour bien fenêtrer la population cellulaire d'intérêt et éliminer les débris et les agrégats érythrocytaires engendrés par les anticorps monoclonaux, notamment l'anticorps anti-CD59. Il est fortement conseillé de bien laver les cellules après le marquage et d'inclure, dans un des tubes réactionnels, une certaine proportion de cellules non marquées qui serviront de témoin interne pour le positionnement des cellules type III (totalement déficitaires) et en conséquence des cellules type II (par-

tiellement déficitaires en molécules GPI ancrées), localisées entre les cellules normales marquées et les cellules totalement déficitaires, non marquées. Les graphes biparamétrés sont préférés aux histogrammes monoparamétriques. Le ciblage des globules blancs est réalisé sur le graphe SSC/CD45, puis à l'aide des marqueurs de lignée : CD66 ou CD15 pour les polynucléaires neutrophiles, et CD64 ou CD33 pour les monocytes (27, 28). Certains préfèrent le CD64 à cause de sa distinction plus nette entre la sous-population de cellules normales et celle déficiente en ancre GPI (29).

Les marqueurs à analyser sur les globules rouges sont le CD55 et le CD59 ; ces derniers, par contre, ne sont pas recommandés pour l'analyse des globules blancs. Le CD16 n'étant pas exprimé par les polynucléaires éosinophiles et les précurseurs myéloïdes, il serait donc intéressant d'utiliser aussi ce marqueur pour « purifier » davantage la fenêtre des polynucléaires et éliminer les faux positifs en cas d'hyperéosinophilie sanguine et/ou de myélémie. Le CD14 est faiblement ou non exprimé sur les monocytes immatures et les cellules dendritiques et ce marqueur n'est donc pas recommandé (27). Le marqueur le plus intéressant est sans doute le FLAER (*fluorescent aerobysin*), une protéine bactérienne, qui se lie spécifiquement à l'ancre GPI, si bien que l'absence de son expression est pathognomonique d'un clone GPI-déficient (30). Pour un protocole de dépistage, il est suffisant de faire l'acquisition sur 5 000 à 10 000 événements afin de pouvoir identifier un clone de 1 % (27).

Le défi majeur réside en fait dans la détection des petits clones, résiduels ou associés à l'aplasie médullaire ou aux syndromes myélodysplasiques. Cette démarche nécessite donc la mise en place de protocoles de haute sensibilité, décelant des événements rares. Il est impératif, dans ce contexte, de limiter le nombre de faux positifs (marquage non spécifique, auto-fluorescence, et « bruit ou fréquence de fond ») et d'acquies un nombre important d'événements. Les marquages non spécifiques et l'auto-fluorescence sont des aléas techniques qui peuvent être plus ou moins bien surmontés. Par contre, la « fréquence de fond » dépend du nombre de cellules HNP retrouvées dans une population de témoins sains. Ce nombre varie de 10 à 20 événements pour 10⁶ événements acquis (31). La limite de 0,01 %, fixée comme seuil de positivité pour les leucocytes, est en fait extrapolée des autres protocoles de cytométrie destinés à la détection des événements rares. En pratique, on considère qu'un clone de globules blancs est significatif s'il comporte plus de 20 cellules sur 200 000. Pour les hématies, un seuil de 0,005 % a été proposé (27).

C) Contrôles de qualité

Un contrôle de qualité externe britannique, UK NEQAS LI, a montré sa reproductibilité dans 19 laboratoires ayant une expérience dans le diagnostic et le suivi des HPN, y compris en protocoles de haute sensibilité, mais ceci n'a pas été le cas avec les 156 participants de la session 2012. Notamment 18 participants avaient trouvé un clone HNP dans le contrôle négatif, 4 participants

n'avaient pas dépisté un clone de 0,1 % et un laboratoire n'avait pas décelé un clone de 8 %. De plus, les tailles des clones rendues par les participants étaient très divergentes. L'ensemble des résultats a soulevé la nécessité de standardiser les protocoles et les réactifs (32). En France, un contrôle de qualité est également organisé par l'Association Française de Cytométrie (AFC).

D) Interprétation des résultats

Celle-ci est souvent aisée quand le clone est de grande taille. Les tailles des clones granuleux et monocytaires devraient concorder. La taille du clone érythrocytaire est souvent plus petite à cause de l'hémolyse, la demi-vie diminuée des hématies du clone HNP et l'effet de dilution liée à la transfusion sanguine (27, 28). Il est important de rendre le pourcentage des cellules type III du fait des conséquences cliniques hémolytiques d'un volumineux contingent de cellules type III (33).

V. - PRINCIPES DE PRISE EN CHARGE

La prise en charge de l'hémolyse dans l'HNP a été révolutionnée par l'eculizumab (Soliris®, Alexion Pharmaceuticals), médicament approuvé en 2007 par la *Food and Drug Administration*, qui est un anticorps monoclonal humanisé se liant à la fraction C5 du complément et inhibant son activation terminale et l'assemblage du complexe d'attaque membranaire (23). Deux essais de phase III (TRIUMPH et SHEPHERD) ont démontré son efficacité dans la diminution de l'hémolyse et des besoins transfusionnels ainsi que dans l'amélioration de la qualité de vie (34). L'étude SHEPHERD et d'autres études plus récentes ont aussi établi que l'eculizumab contribue à réduire les événements thromboemboliques (35). Il n'est pas contre-indiqué lors de la grossesse. Une vaccination contre le méningocoque est nécessaire avant l'instauration du traitement, Soliris® prédisposant à une infection invasive par *Neisseria meningitidis*. Il est indiqué en cas de crises hémolytiques récurrentes, de fatigue importante, de thromboses récidivantes et d'altération progressive de la fonction rénale. Il n'est pas indiqué chez les patients asymptomatiques ou ayant de petits clones associés à une aplasie médullaire ou à un syndrome myélodysplasique (36). Environ 25-35 % des patients répondent partiellement à l'eculizumab et restent dépendants de transfusions sanguines à cause d'un polymorphisme du récepteur du complément CR1 (37), ou d'une opsonisation des hématies par la fraction C3 du complément suivie de leur élimination par la rate, ou d'autres mécanismes imparfaitement connus. De nouvelles stratégies thérapeutiques, en cours d'évaluation, visent en effet à contourner les mécanismes susmentionnés, soit en bloquant la fraction C3 par des anticorps monoclonaux, soit en utilisant un inhibiteur physiologique du complément appelé FH (38).

Si l'eculizumab n'est pas disponible (coût annuel moyen de 300 000 euros par patient), un traitement de support de l'anémie est instauré : supplémentation en folates et fer,

avec transfusion de concentrés de culots globulaires en cas d'indication clinique. L'usage de la prednisone n'est pas consensuel, bien que ce corticoïde soit un inhibiteur puissant et rapide de l'hémolyse. En cas d'installation de cytopénies (réticulocytopenie, thrombopénie et/ou neutropénie), un traitement immunosuppresseur devrait être proposé. Par ailleurs, certains patients répondent bien à l'érythropoïétine et au G-CSF (*Granulocyte Colony-Stimulating Factor*). En cas d'échec, une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques est indiquée (33). Ses indications ont fortement diminué depuis l'introduction de l'eculizumab, mais elle reste le seul traitement curatif à l'heure actuelle. Ses indications principales sont les cytopénies réfractaires, les thromboses récidivantes malgré le traitement par l'eculizumab, l'aplasie médullaire et la transformation en syndrome myélodysplasique ou leucémie aiguë. La survie globale à 5 ans est de l'ordre de 70 %, avec, comme principales causes de décès, les réactions du greffon contre l'hôte et les infections. La survie des greffés est de 54 %, 69 % et 86 % quand l'indication de la greffe est respectivement la thrombose, l'aplasie médullaire sans thrombose, et l'anémie hémolytique sans thrombose et sans aplasie. Il convient de souligner que la greffe réduit la survie à 5 ans des malades présentant des événements thromboemboliques. Un avantage de survie est uniquement observé en cas d'aplasie avec clone HPN (39).

En cas d'événements thromboemboliques, un traitement par l'héparine est instauré à la phase aiguë, suivi d'un relai par un anti-vitamine K (AVK) ou par de l'héparine de bas poids moléculaire. Une thrombolyse est indiquée lorsque le pronostic vital est engagé. L'eculizumab est très fréquemment prescrit en prévention secondaire d'événements thromboemboliques, et tous les experts recommandent une prophylaxie par une héparine de bas poids moléculaire dans les situations à risque de thrombose. Les questions qui restent en suspens portent sur la durée d'anticoagulation (faut-il un traitement à vie par un AVK ?) et sur le bien-fondé d'une prévention primaire par l'eculizumab chez certains sujets à risque. Il n'y a pas à l'heure actuelle des recommandations claires ; la prise en charge se fait au cas par cas, en prenant en compte la présence éventuelle d'autres facteurs de risque de thrombose (33, 40).

VI. - PRONOSTIC

Le pronostic de l'HNP a été amélioré grâce à la meilleure connaissance et prise en charge de la maladie. Cette amélioration est objectivée par la survie prolongée des malades constatée à douze ans d'intervalle : la Société Française d'Hématologie la rapportait, à partir de l'analyse de données de séries de malades, à 14,6 ans en 1996 et à 22 ans en 2008. Les facteurs associés à une survie diminuée dans la série de 2008, toutes catégories confondues, étaient : un diagnostic posé avant 1996, un âge supérieur à 40 ans, un taux d'hémoglobine ≤ 100 g/L, une neutropénie sanguine, une absence de traitement au cours de la première année suivant le diagnostic de la maladie, la progression vers une bi ou pancytopenie, la survenue d'une thrombose et l'évolution vers un syndrome myélodysplasique ou une leucémie aiguë (19).

VII. - CONCLUSION

L'HNP est une affection clonale, acquise et rare de la cellule souche hématopoïétique, touchant essentiellement le sujet jeune. Malgré son polymorphisme clinique, elle comporte trois volets majeurs : l'hémolyse, les thromboses et les cytopénies. Elle est fréquemment associée à l'aplasie médullaire, et moins souvent à des syndromes myélodysplasiques notamment l'anémie réfractaire, avec possibilité d'évolution – très rare – vers une leucémie aiguë. La cytométrie en flux est actuellement l'examen biologique de référence pour le diagnostic et le suivi de la maladie et des petits clones HNP. Le seul traitement curatif reste l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, mais ses indications ont nettement diminué depuis l'introduction thérapeutique de l'eculizumab. La première cause de mortalité reste la thrombose, mais le pronostic de cette maladie a été amélioré au cours du temps par la compréhension de sa physiopathologie et, par voie de conséquence, par sa meilleure prise en charge.

Conflit d'intérêt : aucun.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Parker CJ. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a historical overview. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2008; **2008** (1) : 93-103.
- (2) Brodsky RA. Narrative review: paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: the physiology of complement-related hemolytic anemia. *Ann Intern Med* 2008; **148** (8) : 587-95.
- (3) Schrezenmeier H, Muss P, Socié G, Szer J, Urbano-Ispizua A, Maciejewski JP *et al.* Baseline characteristics and disease burden in patients in the International Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Registry. *Haematologica* 2014; **99** (5) : 922-7.
- (4) Pu JJ, Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria from bench to bedside. *Clin Transl Sci* 2011; **4** (3) : 219-24.
- (5) Holt DS, Botto M, Bygrave AE, Hanna SM, Walport MJ, Morgan BP. Targeted deletion of the CD59 gene causes spontaneous intravascular hemolysis and hemoglobinuria. *Blood* 2001; **98** (2) : 442-9.
- (6) Hill A, Kelly RJ, Hillmen P. Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2013; **121** (25) : 4985-96.
- (7) Savage WJ, Barber JP, Mukhina GL, Hu R, Chen G, Matsui W *et al.* Glycosylphosphatidylinositol-anchored protein deficiency confers resistance to apoptosis in PNH. *Exp Hematol* 2009; **37** (1) : 42-51.
- (8) Telen MJ, Rosse WF, Parker CJ, Moulds MK, Moulds JJ. Evidence that several high-frequency human blood group antigens reside on phosphatidylinositol-linked erythrocyte membrane proteins. *Blood* 1990; **75** (7) : 1404-7.
- (9) Qin X, Krumrei N, Grubissich L, Dobarro M, Aktas H, Perez G *et al.* Deficiency of the mouse complement regulatory protein mCd59b results in spontaneous hemolytic anemia with platelet activation and progressive male infertility. *Immunity* 2003; **18** (2) : 217-27.
- (10) Baalasubramanian S, Harris CL, Donev RM, Mizuno M, Omidvar N, Song WC *et al.* CD59a is the primary regulator of membrane attack complex assembly in the mouse. *J Immunol* 2004; **173** (36) : 3684-92.
- (11) Hill A, Ridley SH, Esser D, Oldroyd RG, Cullen MJ, Kareclas P *et al.* Protection of erythrocytes from human complement-mediated lysis by membrane-targeted recombinant soluble CD59: a new approach to PNH therapy. *Blood* 2006; **107** (5) : 2131-7.
- (12) Shichishima T, Saitoh Y, Terasawa T, Noji H, Kai T, Maruyama Y. Complement sensitivity of erythrocytes in a patient with inherited complete deficiency of CD59 or with the Inab phenotype. *Br J Haematol* 1999; **104** (2) : 303-6.
- (13) Yuan FF, Bryant JA, Fletcher A. Protease-modified erythrocytes: CD55 and CD59 deficient PNH-like cells. *Immunol Cell Biol* 1995; **73** (1) : 66-72.
- (14) Holgiun MH, Martin CB, Bernshaw NJ, Parker CJ. Analysis of the effects of activation of the alternative pathway of complement on erythrocytes with an isolated deficiency of decay accelerating factor. *J Immunol* 1992; **148** (2) : 498-502.
- (15) Wiedmer T, Hall SE, Ortel TL, Kane WH, Rosse WF, Sims PJ. Complement-induced vesiculation and exposure of membrane prothrombinase sites in platelets of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 1993; **82** (4) : 1192-6.
- (16) Van Bijnen ST, Van Heerde WL, Muus P. Mechanisms and clinical implications of thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Thromb Haemost* 2012; **10** (1) : 1-10.
- (17) Araten DJ, Bessler M, McKenzie S, Castro-Malaspina H, Childs BH, Boulad F *et al.* Dynamics of hematopoiesis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH): no evidence for intrinsic growth advantage of PNH clones. *Leukemia* 2002; **16** (11) : 2243-8.
- (18) Kelly R, Richards S, Hillmen P, Hill A. The pathophysiology of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and treatment with eculizumab. *Ther Clin Risk Manag* 2009; **5** : 911-21.
- (19) Peffault de Latour R, Mary JY, Salanoubat C, Terriou L, Etienne G, Mohty M *et al.* Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: natural history of disease subcategories. *Blood* 2008; **112** (8) : 3099-106.
- (20) Pu JJ, Mukhina G, Wang H, Savage WJ, Brodsky RA. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in patients presenting as aplastic anemia. *Eur J Haematol* 2011; **87** (1) : 37-45.
- (21) Nair RK, Khaira A, Sharma A, Mahajan S, Dinda AK. Spectrum of renal involvement in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: report of three cases and a brief review of the literature. *Int Urol Nephrol* 2008; **40** (2) : 471-5.
- (22) Hill A, Rother RP, Hillmen P. Improvement in the symptoms of smooth muscle dystonia during eculizumab therapy in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Haematologica* 2005; **90** (12 Suppl) : ECR40.
- (23) Hillmen P, Young NS, Schubert J, Brodsky RA, Socié G, Muus P *et al.* The complement inhibitor eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 2006; **355** (12) : 1233-43.
- (24) Peffault de Latour R, Amoura Z, Socié G. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Rev Med Interne* 2010; **31** (3) : 200-7.
- (25) Maciejewski JP, Sloand EM, Sato T, Anderson S, Young NS. Impaired hematopoiesis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria/aplastic anemia is not associated with a selective proliferative defect in the glycosylphosphatidylinositol-anchored protein-deficient clone. *Blood* 1997; **89** (4) : 1173-81.
- (26) Bessler M, Hiken J. The pathophysiology of disease in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2008; **2008** : 104-10.
- (27) Borrowitz MJ, Craig FE, DiGiuseppe JA, Illingworth AJ, Rosse W, Sutherland DR *et al.* Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom* 2010; **78** (4) : 211-30.
- (28) Sutherland DR, Keeney M, Illingworth A. Practical guidelines for the high-sensitivity detection and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom* 2012; **82** (4) : 195-218.
- (29) Dalal BI, Khare NS. Flow cytometric testing for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: CD64 is better for gating monocytes than CD33. *Cytometry B Clin Cytom* 2013; **84** (1) : 33-6.
- (30) Sutherland DR, Kuek N, Davidson J, Barth D, Chang H, Yeo E *et al.* Diagnosing PNH with FLAER and multiparameter flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom* 2007; **72** (3) : 167-77.
- (31) Hu R, Mukhina GL, Piantadosi S, Barber JP, Jones R, Brodsky RA. PIG-A mutations in normal hematopoiesis. *Blood* 2005; **105** (10) : 3848-54.
- (32) Fletcher M, Sutherland DR, Whitby L, Whitby A, Richards SJ, Acton E *et al.* Standardizing leucocyte PNH clone detection: an international study. *Cytometry B Clin Cytom* 2014; **86** (5) : 311-8.
- (33) Parker CJ. Management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in the era of complement inhibitory therapy. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2011; **2011** (1) : 21-9.
- (34) Röth A, Dührsen U. Treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in the era of eculizumab. *Eur J Haematol* 2011; **87** (6) : 473-9.
- (35) Hillmen P, Muus P, Dührsen U, Risitano AM, Schubert J, Luzzatto L *et al.* Effect of the complement inhibitor eculizumab on thromboembolism in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2007; **110** (12) : 4123-8.
- (36) Brodsky RA. How I treat paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2009; **113** (26) : 6522-7.
- (37) Rondelli T, Risitano AM, Peffault de Latour R, Sica M, Peruzzi B, Ricci P *et al.* Polymorphism of the complement receptor 1 gene correlates with the hematologic response to eculizumab in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Haematologica* 2014; **99** (2) : 262-6.
- (38) Risitano AM. Anti-complement treatment in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: where we stand and where we are going. *Transl Med UniSa* 2014; **8** (6) : 43-52.
- (39) Peffault de Latour R, Schrezenmeier H, Bacigalupo A, Blaise D, de Souza CA, Vigouroux S *et al.* Allogeneic stem cell transplantation in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Haematologica* 2012; **97** (11) : 1666-73.
- (40) Malato A, Saccullo G, Coco LL, Mancuso S, Santoro M, Martino S *et al.* Thrombotic complications in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a literature review. *Blood Transfus* 2012; **10** (4) : 428-35.