

# Anémie hémolytique, carence martiale et antécédents de thrombose : penser à l'hémoglobinurie paroxystique nocturne\*

Nicolas Gendron<sup>1,2,3</sup>, Jean-Benoit Arlet<sup>4,5</sup>, Pascale Gaussem<sup>1,2,3</sup>, Isabelle Radford-Weiss<sup>6</sup>,  
Sidonie Dupeux<sup>4</sup>, Jérémie Rosain<sup>7,8</sup>, Régis Peffault de La Tour<sup>9,10,11</sup>, Luc Darnige<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> AP-HP, Hôpital européen Georges Pompidou, Service d'hématologie biologique, Paris, France  
<luc.darnige@aphp.fr>

<sup>2</sup> Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

<sup>3</sup> Inserm UMR-S1140, Paris, France

<sup>4</sup> AP-HP, Hôpital européen Georges Pompidou, Service de médecine interne, Paris, France

<sup>5</sup> Inserm I163, CNRS ERL 8254, Institut Imagine, Paris, France

<sup>6</sup> AP-HP, Hôpital Necker-Enfants malades, Service d'histologie-embryologie-cytogénétique, Paris, France

<sup>7</sup> AP-HP, Hôpital européen Georges Pompidou, Service d'immunologie biologique, Paris, France

<sup>8</sup> Inserm UMR\_S1138, Centre de recherche des Cordeliers, Paris, France

<sup>9</sup> AP-HP, Hôpital Saint-Louis, Service d'hématologie-greffe, Paris, France

<sup>10</sup> Université Paris Denis Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

<sup>11</sup> Inserm UMR 1160, Paris, France

**Résumé.** L'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN) est une hémopathie acquise rare mais devant être correctement diagnostiquée car il s'agit d'une pathologie chronique ayant un réel impact sur la qualité de vie et la survie des patients. Il n'est pas recommandé de rechercher l'HPN chez tous les patients avec anémie ou thrombose. Nous rapportons le cas d'un patient de 71 ans adressé pour anémie chronique. Le bilan d'anémie objectivait une anémie hémolytique à test direct à l'antiglobuline négatif, mais aussi une carence martiale. Devant l'association de signes biologiques d'hémolyse intravasculaire et d'antécédents personnels de deux épisodes de phlébites des membres inférieurs, une recherche d'un clone HPN par cytométrie en flux est réalisée et identifie un clone HPN représentant environ 33 % des granuleux et 11 % des globules rouges. Le caryotype médullaire montre une délétion interstitielle du chromosome 13. L'HPN, par l'hémolyse intravasculaire chronique, entraîne une perte du fer par voie urinaire. Il s'agit de la seule cause d'anémie hémolytique induisant une carence martiale.

**Mots clés :** hémoglobinurie paroxystique nocturne, carence martiale, thrombose, chromosome 13, hémolyse

## Tirés à part :

L. Darnige

\* Cet article est déjà paru dans *Annales de Biologie Clinique*. Gendron N, Arlet JB, Gaussem P, et al. Anémie hémolytique, carence martiale et antécédents de thrombose : penser à l'hémoglobinurie paroxystique nocturne. *Ann Biol Clin* 2017 ; 75(5) : 580-8. doi : 10.1684/abc.2017.1277.

### Abstract

#### Hemolytic anemia, iron deficiency and personal history of deep vein thrombosis: consider paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

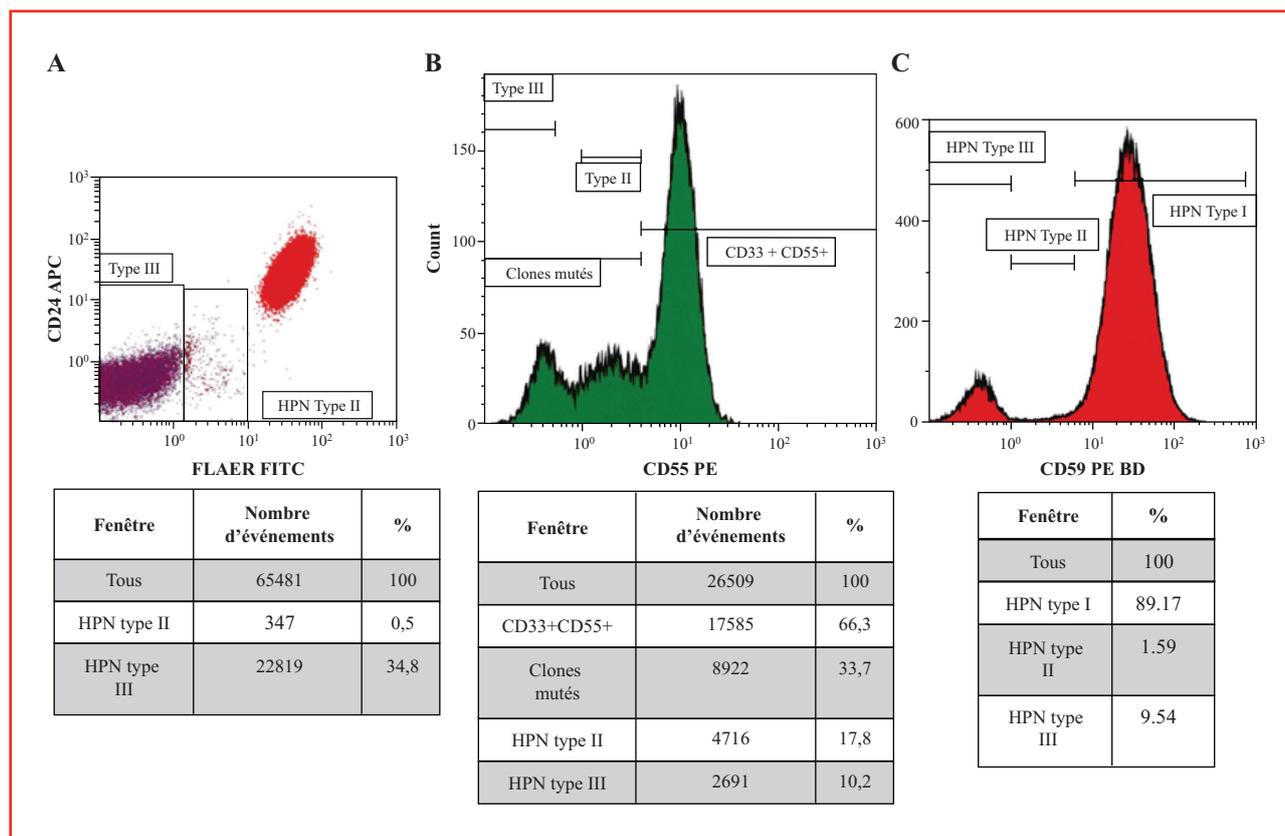
Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is a rare acquired hematopoietic stem cell disorder that must be correctly diagnose because it is a chronic disease with a real impact on the quality of life and the survival of the patients. PNH screening of all patients with anemia or thrombosis is not recommended. We report the case of a 71-year-old male patient referred for chronic anemia. Anemia work-up revealed a misunderstood association of a hemolytic anemia with a negative direct antiglobulin test and iron deficiency. The patient exhibits biological signs of intravascular hemolysis, as well as a recent history of two episodes of deep vein thrombosis. Screening for PNH by flow cytometry shows a PNH clone with a size of approximately 33% of the granulocytes and 11% of the red blood cells. An interstitial deletion of the chromosome 13 was found in the medullar karyotype. PNH through chronic intravascular hemolysis induces an urinary iron loss. This is the only cause of hemolytic anemia inducing iron deficiency.

**Key words:** paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, iron deficiency, thrombosis, chromosome 13, hemolysis

### Observation

Un homme de 71 ans, est adressé à la consultation d'hématologie pour exploration d'une anémie évoluant depuis juillet 2014. Il est à noter parmi ses antécédents médicaux, une hypertension artérielle traitée, une hernie hiatale ainsi qu'un tabagisme sevré depuis 25 ans. Ses antécédents chirurgicaux comprennent une cure chirurgicale d'hydrocèle et une chirurgie de la cataracte. Par ailleurs, il y a cinq ans, le patient a présenté un 1<sup>er</sup> épisode de thrombose veineuse profonde (TVP) de la veine saphène externe à gauche après un traumatisme sur un terrain variqueux. Plus récemment, en février 2015, il a présenté une TVP surale et poplitée droite non provoquée qui a été traitée par héparine de bas poids moléculaire (tinzaparine) puis relayée par un antagoniste de la vitamine K (AVK, fluindione) qu'il prend encore actuellement. Il n'a pas d'antécédents familiaux cardiovasculaire ou thromboembolique veineux et artériel. À l'examen clinique, le patient est en bon état général et ne présente ni adénopathie, ni hépato-splénomégalie. Le patient présente une bonne tolérance à l'anémie en dehors d'une asthénie sans saignement extériorisé ni d'ictère cutanéomuqueux ni trouble alimentaire. L'hémogramme réalisé le 17 avril 2015 confirme une anémie à 96 g/L (142 g/L en avril 2013, et 124 g/L en juillet 2014, N : 130-170) avec un volume globulaire moyen (VGM) normal. L'anémie est non régénérative (réticulocytes à 113 G/L) et il existe une discrète thrombopénie à 140 G/L, chronique depuis 2013 ainsi qu'une discrète leucopénie 3,7 G/L (N : 4-10) dont 2 G/L de polynucléaires neutrophiles (N : 1,8-7,50). Le reste de la formule sanguine est sans particularité. Il n'est pas retrouvé de carence vitaminique

(folates et vitamine B12 normaux), ni d'anomalie du bilan thyroïdien, rénal et inflammatoire (protéine C réactive [CRP] à 2 mg/L). Le bilan martial est en faveur d'une carence : ferritine basse à 17 µg/L (N : 24-336), fer sérique à 8 µmol/L (N : 12-31) et un coefficient de saturation de la transferrine à 11 % (N : 23-43). Par ailleurs, il existe des stigmates biologiques d'hémolyse : l'haptoglobine est effondrée à 0,02 g/L (N : 0,36-1,95), les lactates déshydrogénases (LDH) très élevées à 985 UI/L (N : < 245). Le test direct à l'antiglobuline (TDA) est négatif et le frottis sanguin est strictement normal (pas de schizocytes notamment). Une recherche de clone d'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN) par cytométrie en flux (CMF) a donc été réalisée. Cette recherche objective la présence d'un clone HPN (basée sur l'absence d'expression des protéines CD55 et CD59) représentant environ 33 % des granuleux et 11 % des globules rouges (GR) (figure 1). Un myélogramme réalisé met en évidence une moelle de richesse normale avec peu de mégacaryocytes, associée à une hyperplasie relative de lignée érythroblastique avec une dysérythropoïèse assez franche : binucléarité, asynchronisme de maturation nucléocytoplasmique, chromatine perlée et cytoplasme feuilleté. Par ailleurs, l'analyse cytogénétique de la moelle osseuse rapporte un clone avec délétion interstitielle du chromosome 13, déjà rapportée chez des patients avec HPN, mais dont la valeur pronostique est mal connue [1]. Un traitement par éculizumab 600 mg/semaine pendant quatre semaines, puis 900 mg tous les 14 jours, est alors débuté après réalisation d'une prophylaxie anti-infectieuse par oracilline et d'une vaccination antiméningococcique deux semaines avant, ainsi que la vérification du statut vaccinal du patient conformément



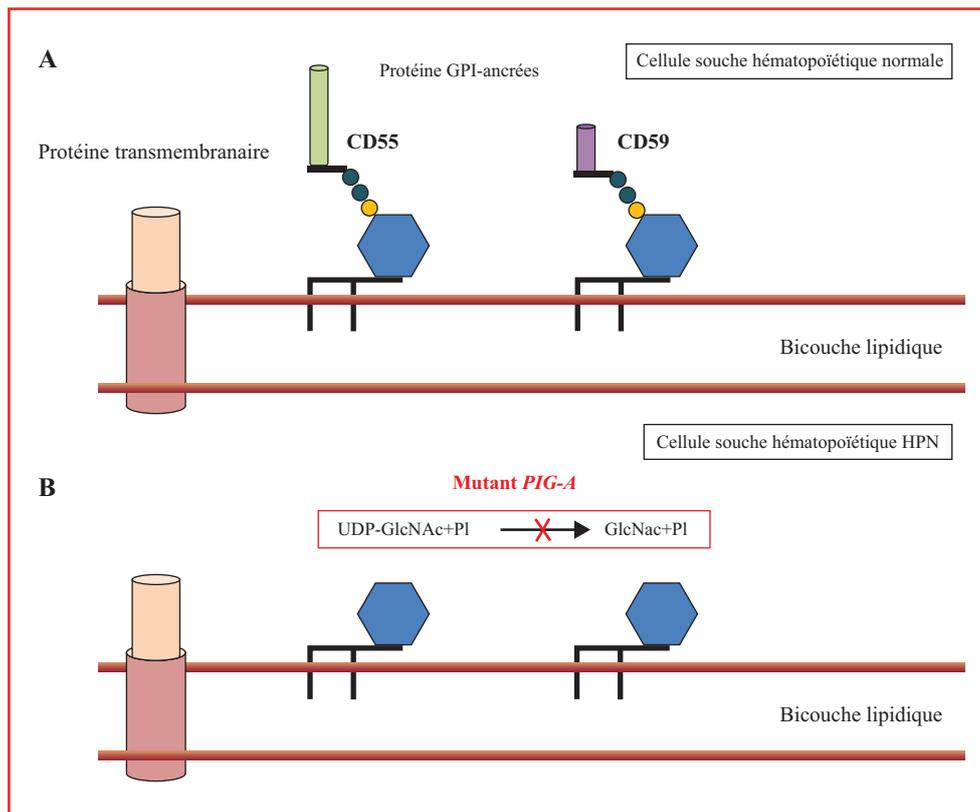
**Figure 1.** Analyses par cytométrie en flux à la recherche de clone d'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN) chez le patient. Identification du clone HPN par techniques de FLAER sur les granulocytes (A), cytométrie en flux des protéines GPI-ancrées sur les granulocytes (B) et les globules rouges (C).

aux recommandations vaccinales en vigueur. En parallèle, le patient est supplémenté en fer par voie orale pendant un minimum de trois mois.

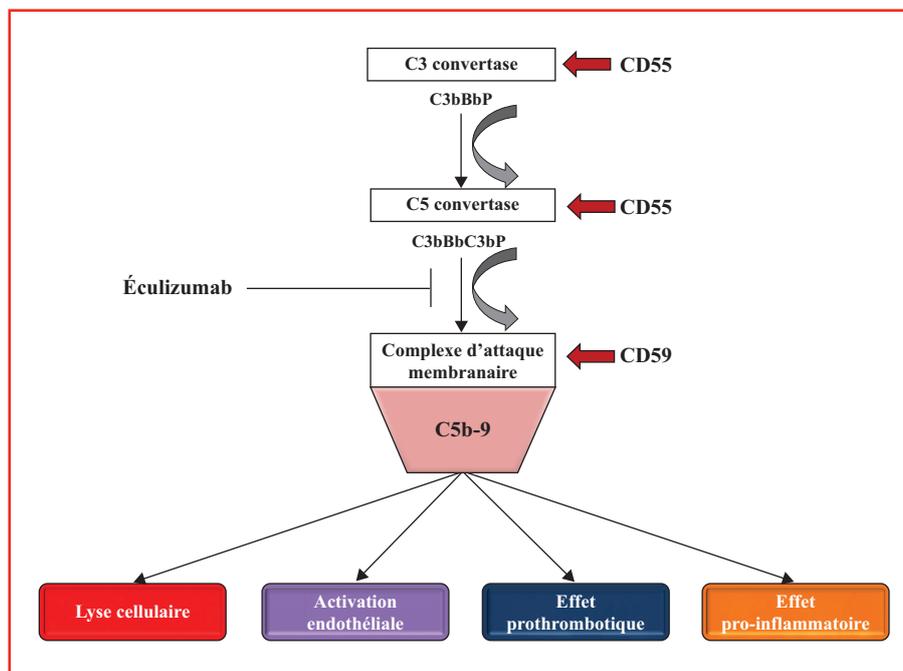
### Le point de vue du biologiste médical

L'HPN, anciennement appelée maladie de Marchiafava-Micheli découverte dans les années 1800, est une hémopathie acquise caractérisée par des épisodes d'hémolyse intravasculaire liés à une activation non contrôlée du système du complément. Dans l'HPN, la mutation du gène *PIG-A* (phosphatidyl-inositol glycane de classe A), au niveau de la cellule-souche hématopoïétique, empêche la fixation sur les GR d'inhibiteurs du complément. En effet, *PIG-A*, localisé au niveau de Xp22, code l'ancre protéique GPI (glycosyl-phosphatidyl-inositol) servant d'ancrage à de nombreuses protéines membranaires à la surface cellulaire dont le CD55 (DAF, *decay accelerating factor*) et CD59 (MIRL, *membran inhibitor of reactive lysis*), deux protéines à ancre GPI essentielles à la protection des GR

de la destruction par le système du complément *via* la voie alterne (*figure 2*). Le CD55 prévient la formation et augmente l'instabilité de la C3 convertase et de la C5 convertase. Le CD59 inhibe l'assemblage du complexe d'attaque membranaire (MAC) [2]. Ainsi, les mutations somatiques du gène *PIG-A* provoquent une limitation ou absence de synthèse de GPI et donc un déficit partiel ou total en CD55 et CD59 (*figure 3*) entraînant une sensibilité anormale à l'action lytique du complément, provoquant une hémolyse intravasculaire des GR HPN et une libération de leur contenu dans la circulation sanguine. L'anémie hémolytique intravasculaire est responsable d'une augmentation de la bilirubine libre, des LDH, de l'hémoglobine libre plasmatique avec, en parallèle, un effondrement de l'haptoglobine. L'hémolyse est déclenchée par l'activation du complément (infection, stress, vaccination, transfusion, aspirine, sulfamides) ou par la chute nocturne du pH sanguin et s'accompagne de l'émission d'urines foncées le matin. L'hémoglobine libre en excès est éliminée par le rein sous forme d'hémoglobinurie, donnant cette couleur « porto » aux urines. L'accumulation de dépôt de fer



**Figure 2.** Physiopathologie de l'hémoglobinurie paroxystique nocturne. Cellule-souche hématopoïétique normale avec présence à la surface cellulaire de protéines GPI-ancrées CD55 et CD59 (A). Acquisition d'une mutation de PIG-A par la cellule-souche hématopoïétique est perte de l'expression à sa surface des protéines GPI-ancrées (B).



**Figure 3.** Activation de la voie terminale du complément et inhibition par l'éculizumab.

sous forme hémossidérine (mise en évidence par la coloration de Perl's sur le culot urinaire) au niveau rénal peut être responsable d'une atteinte tubulaire proximale [3]. En effet, ces dépôts de fer dans le rein peuvent dépasser 80 fois la normale. Dans l'HPN, les pertes de fer sont évaluées entre 2,6 mg à 11 mg/jour sous forme de fer, d'hémossidérine ou d'hémoglobine alors que chez le sujet sain la perte de fer urinaire est < 1 mg/jour [4]. Chez les patients HPN non polytransfusés, il existe une perte du fer tissulaire dans le tissu hépatique, splénique et médullaire.

De par la symptomatologie hémolytique, le diagnostic biologique de l'HPN s'est longtemps focalisé sur l'étude des GR par, notamment, le test au sucrose et le test d'Ham Dacie qui consistaient en l'observation *in vitro* d'une sensibilité anormale des GR à l'hémolyse en milieu acidifié activant ainsi la voie alterne du complément, mais ces tests n'étaient pas spécifiques. Actuellement, la CMF est la méthode de référence pour détecter les déficits en protéines GPI-ancrées et ainsi diagnostiquer et suivre les patients HPN [5]. La recherche de clone HPN par CMF se fait à partir d'un prélèvement de sang veineux périphérique (EDTA [éthylène diamine tétra-acétique] préférentiellement mais possible sur tube hépariné ou citaté) et doit être réalisée dans les 24-48 heures [5]. L'étude de l'expression du CD55 ou CD59 permet d'identifier et de quantifier les GR ayant un déficit en protéines GPI-ancrées (type III) et de les distinguer des GR normaux (type I). Elle permet également d'identifier les cellules ayant un déficit partiel de ces marqueurs (type II). Les GR sont une cible intéressante pour la recherche de clone HPN car ils sont présents en grande quantité, présentent une forte densité de protéines GPI-ancrées et ne nécessitent pas de lyse cellulaire avant analyse par CMF. Il est recommandé lors du diagnostic de quantifier l'expression de deux protéines GPI-ancrées pour exclure la possibilité diagnostique d'un très rare déficit en une protéine GPI-ancrée isolée [6]. Mais l'étude seule des GR n'est pas une méthode adéquate pour le diagnostic et le suivi des patients HPN, car l'hémolyse et la transfusion de concentrés de GR vont surestimer ou sous-estimer, respectivement, la taille du clone. C'est pour cela que l'étude doit se faire aussi sur les granuleux. Il faut toutefois savoir que la taille de nombreux clones HPN sur les GR n'est pas corrélée à celle des clones HPN granuleux. La quantification des clones HPN sur les granuleux est la méthode de quantification la plus utilisée. La comparaison de la taille des clones HPN des GR et des granuleux peut donner une information biologique utile sur le statut du patient. Les lymphocytes ne sont pas utilisés de par leur longue durée de vie et leur expression variable des protéines GPI-ancrées. Les monocytes et neutrophiles peuvent être utilisés, leur

quantification en parallèle n'est pas nécessaire car ils présentent des résultats assez proches. Sur les granuleux, cette recherche doit se faire par la technique de Flaer (*fluorescent aerolysin*, Pinewood Scientific, Vancouver BC) selon les recommandations [6]. Il s'agit d'un fluorochrome conjugué à un variant inactif de l'aérolysine bactérienne isolée de *Aeromonas hydrophila*, qui se lie spécifiquement aux ancrés GPI. Le Flaer peut être associé dans des combinaisons multi-couleurs utilisant des anticorps monoclonaux ciblant des protéines GPI ancrées et non ancrées afin de réaliser le diagnostic d'HPN [5]. On recherche au moins deux molécules à ancre GPI sur les neutrophiles : CD16, CD24, CD55, CD59 ou CD66b. Le suivi des clones HPN des GR serait nécessaire chez les patients traités par éculizumab. En effet, les clones pathologiques vont survivre et donc augmenter au cours du traitement [7]. L'*International PNH Interest Group* (I-PIG) recommande dans les formes classiques d'HPN la réalisation d'une recherche par CMF de clone HPN sur les GR et les granulocytes au diagnostic [6]. Le suivi par CMF sera réalisé tous les six mois pendant deux ans puis annuel si la maladie est stable. Mais devant la moindre dégradation clinique ou progression de la maladie, l'étude par CMF doit être réalisée le plus rapidement possible. En parallèle de la CMF, le suivi du patient consistera en la réalisation d'une numération formule sanguine (NFS) avec décompte des réticulocytes, dosage des LDH, bilan martial complet, urée et créatinine ainsi qu'un dosage de l'érythropoïétine sérique et de l'hémossidérine urinaire [6]. Un suivi biologique annuel peut être réalisé mais il devra être réalisé à la moindre atteinte hématologique.

L'activation chronique incontrôlée du complément est responsable des thromboses dans l'HPN. Ainsi, l'hémolyse intravasculaire entraîne un excès d'hémoglobine plasmatique, après saturation rapide de l'haptoglobine, responsable d'une déplétion en monoxyde d'azote (NO) et ses conséquences, dont une vasoconstriction, une diminution du débit sanguin, une hypercoagulabilité plaquettaire [8] et une libération de microparticules prothrombotiques d'origine plaquettaire et érythrocytaire [9]. Par ailleurs, le fragment C5a peut entraîner la libération par les granulocytes de cytokines inflammatoires et l'expression de facteur tissulaire. De plus, les patients HPN présenteraient une augmentation des marqueurs d'activation endothéliale (vWF, sVCAM-1, microparticules endothéliales), et une augmentation des marqueurs de génération de thrombine (F1+2, D-dimères) qui diminueraient sous traitement par éculizumab [10]. Par ailleurs, la fibrinolyse chez les patients HPN est altérée par une augmentation de sécrétion endothéliale de PAI-1 et une diminution d'expression de l'U-PAR, protéine GPI-ancrée à la surface des monocytes et des granulocytes HPN [9]. La déplétion en NO est aussi

**Tableau 1. Indications cliniques nécessitant une recherche de clone d'hémoglobinurie paroxystique nocturne.**

<b>Hémolyse intravasculaire</b>	Mise en évidence par une hémoglobinurie ou une hémoglobinémie élevée	Hémolyse inexpliquée avec l'un des facteurs suivants : – carence martiale – douleur abdominale ou dysphagie – thrombose – neutropénie et/ou thrombopénie	Autre anémie hémolytique acquise : – non infectieuse – sans schizocytes – à test direct à l'antiglobuline négatif
<b>Thrombose atypique</b>	Sites inhabituels : – veines hépatiques (syndrome de Budd-Chiari) – autres veines intra-abdominales (porte, spléniques, splanchniques) – sinus cérébraux – veines dermiques	Avec une anémie hémolytique	Avec une cytopénie inexpliquée
<b>Insuffisance médullaire</b>	Aplasie ou hypoplasie médullaire suspectée ou confirmée	Cytopénie réfractaire avec dysplasie unilignée	Autres cytopénies d'étiologie inconnue malgré des explorations appropriées

responsable d'autres symptômes comme la dysphagie due à des spasmes œsophagiens, des douleurs abdominales et troubles érectiles [8].

### Le point de vue du clinicien

L'HPN est une hémopathie acquise rare avec une prévalence de l'ordre 1/500 000 patients avec un sex-ratio homme/femme de l'ordre de 1. Elle touche tous les âges mais principalement de jeunes adultes avec un âge médian au diagnostic de 33 ans [11, 12]. De nos jours, grâce au développement, entre autres, des thérapeutiques ciblant le système du complément, la mortalité à dix ans est passé de 65 % à 5 % [11, 13, 14]. Outre l'anémie et la thrombose, l'hémolyse intravasculaire chronique peut générer des présentations cliniques multiples comme de l'asthénie, de la dysphagie, des troubles érectiles et parfois une insuffisance rénale chronique et de l'hypertension artérielle pulmonaire. Par ailleurs, on peut retrouver une aplasie médullaire associée de sévérité variable, et de mécanisme immunologique chez les patients avec HPN.

La recherche de l'HPN doit être ciblée [5, 6] et le diagnostic doit être réalisé correctement, car il s'agit d'une pathologie très rare chronique avec un réel impact sur la qualité de vie et la survie des patients. Les patients HPN présentent une symptomatologie clinico-biologique large dont certains symptômes sont courants. Comme l'incidence

de l'HPN est rare, il n'est pas recommandé de la rechercher chez tous les patients avec anémie ou thrombose. En revanche, certaines présentations cliniques sont suffisantes pour faire rechercher l'HPN et sont résumées dans le *tableau 1*. Une recherche d'HPN doit être réalisée devant une anémie hémolytique à TDA négatif, en particulier si il n'y a pas d'anomalie cytologique des GR (microsphérocytes, drépanocytes, schizocytes) ni de cause d'hémolyse infectieuse associées. Cette recherche est encore plus nécessaire si le patient présente une carence martiale associée car l'hémolyse intravasculaire chronique entraîne une perte urinaire du fer. Bien que l'absence d'hémolyse exclue le diagnostic d'HPN classique mais qu'il existe des formes non hémolytiques d'HPN, la recherche d'HPN ne doit pas se baser uniquement sur le critère d'hémolyse. L'I-PIG recommande une recherche de clone HPN par technique ultra-sensible chez tous les patients présentant une aplasie médullaire ou une cytopénie réfractaire avec dysplasie unilignée. En revanche, cette recherche n'est pas recommandée chez les patients atteints de syndrome myélodysplasique (SMD) autre que l'anémie réfractaire et sans signes d'hémolyse associés [6].

Concernant le cas du patient rapporté ici, il était nécessaire de rechercher un clone HPN, conformément aux recommandations de l'I-PIG, car il présentait une anémie avec hémolyse intravasculaire inexpliquée (frottis sanguin normal et TDA négatif) et associée à une carence martiale, une thrombopénie ainsi que deux antécédents de TVP

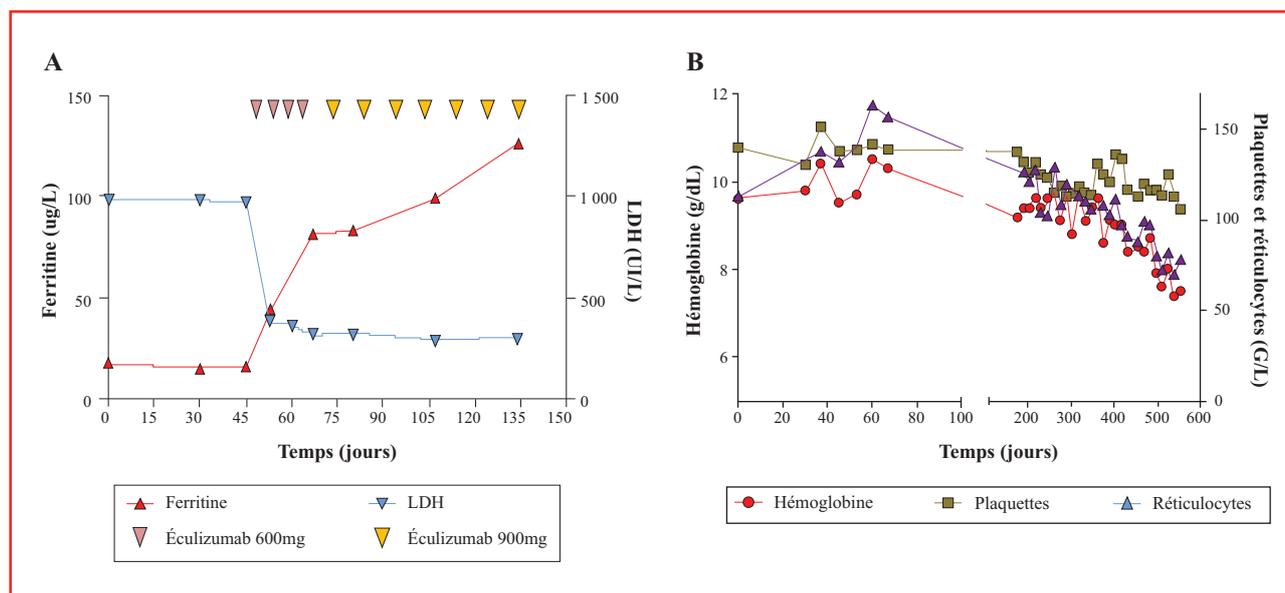
dont une est non provoquée. Il s'agit de la seule cause d'anémie hémolytique entraînant une carence martiale. Les anémies hémolytiques constitutionnelles chroniques avec une part d'hémolyse intravasculaire (hémoglobino-pathies notamment) s'accompagnent habituellement d'une hyperferritinémie, du fait d'une érythropoïèse inefficace, entraînant une synthèse médullaire d'érythroferrone qui inhibe la synthèse hépatique d'hepcidine induisant alors une absorption et un stockage accru de fer [15]. Les autres causes d'anémie hémolytique sont purement intratissulaires (anémie hémolytique auto-immune notamment) *via* le système réticulo-endothélial qui permet une recapture et un recyclage du fer par les macrophages sans perte urinaire. La carence martiale associée dans l'HPN serait la conséquence de l'hémolyse intravasculaire importante et chronique, avec perte majeure de fer par voie urinaire.

Le VGM normal ou élevé peut s'expliquer par la carence en folates possiblement associée que l'on retrouve fréquemment lors d'anémies hémolytiques chroniques. La thrombopénie associée est peut-être liée à l'atteinte médullaire, en faveur d'un SMD associé. Il a été montré que 18 % des patients souffrant de SMD avec une anémie réfractaire présentent un clone HPN. C'est pour cela qu'il est nécessaire de réaliser un myélogramme avec analyse cytogénétique, une fois le diagnostic d'HPN posé. La présentation la plus classique de l'HPN reste l'anémie hémolytique à TDA négatif. En 2005, l'I-PIG a défini la classification suivante des différentes formes cliniques d'HPN [6] :

- l'HPN classique regroupant les patients atteints d'hémolyse et de thrombose. Dans la forme classique (*de novo*) la taille du clone est souvent élevée (> 50 % de cellules positives). Le myélogramme retrouve le plus souvent une moelle riche avec une hyperplasie de la lignée érythrocytaire d'aspect normal ou presque sans anomalie caryotypique associée ;
- l'HPN associée à une autre pathologie hématologique, une aplasie médullaire ou un SMD de faible risque. Dans la forme aplasique la taille du clone est souvent faible (< 25). Environ 25 % des formes hémolytiques d'HPN évolueront vers une forme aplasique. L'aplasie dominant un tableau clinique dans un syndrome aplasie/HPN doit être prise en charge comme une aplasie acquise par greffe ou traitement immunosuppresseur. Seule la survenue d'une forme hémolytique ou d'une thrombose dans le cadre d'un syndrome aplasie/HPN doit faire poser l'indication d'un traitement par éculizumab ;
- l'HPN subclinique qui inclut les patients ayant un faible clone HPN mais sans confirmation clinico-biologique d'hémolyse ou de thrombose associée. La valeur pronostique des clones HPN faibles est encore très controversée

mais il semble que dans les aplasies médullaires, la présence d'un clone HPN soit associée à une meilleure réponse aux traitements immunosuppresseurs. Ces patients ne sont pas candidats à un traitement par éculizumab.

Il semblerait que 22 % des patients ne soient pas classables en forme classique ou associée à une aplasie médullaire. Les formes classiques d'HPN ou associées à une aplasie médullaire présentent le même type de complications au cours de leur évolution, dont la thrombose qui est le facteur pronostique majeur [14]. Nous ne traiterons ici que de la prise en charge de l'HPN classique comme c'est le cas pour ce patient. Deux semaines après la première injection d'écuzumab et juste avant la seconde, le bilan du patient s'améliorait avec diminution des LDH à 378 UI/L et une remontée parallèle de la ferritine à 44 µg/L, mais avec des taux d'hémoglobine et de réticulocytes stables de 97 g/L et 141 G/L respectivement (*figure 4A*). Par ailleurs, le suivi à 1,5 an met en évidence une diminution progressive du taux d'hémoglobine et de plaquettes ainsi que des réticulocytes, traduisant un début d'atteinte médullaire (*figure 4B*). Les cas d'HPN classique évoluant avec une cytopénie ou bicytopénie, comme c'est le cas de ce patient, sont associés à un pronostic plus mauvais [11, 13]. Les thromboses en sont la principale cause avec 40 à 67 % de décès liés à un événement thromboembolique artériel ou veineux [9], avec un délai médian de survenue de deux ans. Les patients atteints d'HPN présentent un risque thrombotique très important et des thromboses surviennent sur des sites multiples, 85 % en veineux et 15 % en artériel. Les événements thromboemboliques veineux sont majoritairement des TVP (33 %), mais peuvent être de localisation atypique (thromboses veineuses splanchniques, syndrome de Budd-Chiari) [9], alors que les événements thromboemboliques artériels sont majoritairement des accidents vasculaires cérébraux (13,7 %) [16]. Ce risque thromboembolique est associé à une mortalité jusqu'à 15 fois supérieure à celle de la population générale [11]. La thrombose est donc à la fois un mode d'entrée dans la pathologie mais aussi un marqueur de mauvais pronostic chez ces patients [9]. Il est à noter que malgré une prise en charge par anticoagulant de type AVK en prophylaxie primaire ou secondaire, les patients conservent un risque thrombotique d'environ 10 % par an [12]. En effet, l'anticoagulation seule n'est pas toujours suffisante et présenterait un risque hémorragique chez les patients HPN thrombopéniques [17]. Les facteurs de risque de thrombose incluent un âge supérieur à 55 ans, le besoin transfusionnel, la présence d'une thrombose au diagnostic, et paradoxalement les patients mis sous warfarine en prophylaxie primaire [13]. Ce risque thrombotique existe quels que soient l'intensité de l'hémolyse, les antécédents transfusionnels, le traitement anticoagulant et la



**Figure 4.** Évolution du patient après diagnostic et mise sous traitement anti-C5. Diminution des signes biologiques d'hémolyse (LDH) associée avec une diminution des pertes urinaires de fer et donc une augmentation de la ferritine (A). Aggravation de l'anémie et de la thrombopénie avec diminution de la régénération réticulocytaire au cours du suivi du patient (B).

taille du clone [12]. La corrélation entre la taille du clone et le risque thrombotique est un sujet toujours très débattu [9]. Les patients présentant un taux de LDH  $\geq 1,5$  x la limite supérieure de la normale ont sept fois plus de risque de présenter un événement thromboembolique [12]. Ce risque de thrombose est aussi majoré lorsque les patients présentent l'un des symptômes suivant : douleurs abdominales et/ou thoraciques, dyspnée, hémoglobinurie.

À ce jour, le seul traitement potentiellement curatif est l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, mais cette procédure, étant associée à une morbidité et une mortalité non négligeables, ne semble plus une option appropriée pour la majorité des patients [6, 17]. L'éculizumab est le seul traitement ciblant le système du complément indiqué dans l'HPN. C'est un anticorps monoclonal humanisé ciblant la fraction C5 du complément. Après administration intraveineuse, il empêche ainsi l'activation et la fixation du complexe d'attaque membranaire sur les hématies et diminue l'hémolyse incontrôlée responsable en partie de la symptomatologie. Le traitement par éculizumab permet de diminuer de 85 % le risque annuel d'événements thromboemboliques [16] et de 65 % le besoin transfusionnel. Il est cependant conseillé de poursuivre l'anticoagulation curative chez les patients aux antécédents de TVP. Le traitement par éculizumab est le plus souvent bien toléré mais peut être associé à certains effets indésirables comme des céphalées (durant la phase d'initiation du traitement), une leucopénie. De par son mécanisme d'action ciblant la formation du MAC, il est responsable d'une susceptibilité accrue aux infections par *Neisseria meningitidis* et par *Neisseria*

*gonorrhoeae*. Plusieurs cas d'infections invasives ont déjà été rapportés chez des patients traités par éculizumab [18]. En revanche, l'éculizumab ne permet pas l'éradication du clone ni sa diminution ainsi que la persistance de l'aplasie médullaire. Chez certains patients traités, on peut observer des dépôts de C3b sur les GR déficitaires en CD55 et les GR seront dégradés plus rapidement par la rate par une hémolyse extravasculaire. Ceci explique l'hémolyse infraclinique persistante que l'on peut observer chez ces patients traités, mais la quantité de C3b sur les GR n'est pas associée aux événements cliniques [19]. Le développement de nouvelles thérapeutiques ciblant le complément paraît intéressant à différents niveaux, tant sur le plan de la voie du complément que de la fréquence d'administration et de l'efficacité sur l'hémolyse (11 % des patients sous éculizumab nécessitent des doses plus élevées que celle recommandée de 900 mg/deux semaines) [18]. Actuellement, sont en cours de développement des thérapeutiques anti-C5 à longue demi-vie ainsi que des siRNA injectables par voie sous-cutanée, capables de se fixer à l'ARNm issu de la transcription du gène codant la protéine C5. Des thérapeutiques ciblant la fraction C3 sont aussi à l'étude ayant pour but d'inhiber plus en amont le complément et de diminuer les dépôts de C3b sur les GR.

## Conclusion

L'HPN est une maladie très rare dont le diagnostic doit notamment être évoqué devant l'association atypique d'une

hémolyse chronique et d'une carence martiale. Le diagnostic biologique est maintenant aisé grâce aux techniques de cytométrie en flux qui sont devenues mieux standardisées. Ce diagnostic est particulièrement important compte tenu de l'avènement d'une thérapeutique ciblée améliorant le pronostic des patients avec hémolyse en diminuant le risque thrombotique. ■

**Liens d'intérêts :** N. Gendron : participation à une réunion d'experts pour Alexion ; R. Peffault de La Tour : conseil et interventions ponctuelles pour Alexion ; L. Darnige : interventions ponctuelles pour LFB et Sanofi-Aventis, rédaction ouvrage pour Stago. Les autres auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt.

## Références

1. Kim H, Hur M, Moon H-W, Park CM, Yun Y-M, Kim SY. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with deletion of chromosome 13q (q12q14) : a case report and review of the literature. *Ann Clin Lab Sci* 2012 ; 42 : 313-7.
2. Rosain J, Ngo S, Bordereau P, *et al.* Complement deficiencies and human diseases. *Ann Biol Clin (Paris)* 2014 ; 72 : 271-80.
3. Suzukawa K, Ninomiya H, Mitsuhashi S, Anno I, Nagasawa T, Abe T. Demonstration of the deposition of hemosiderin in the kidneys of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria by magnetic resonance imaging. *Intern Med Tokyo Jpn* 1993 ; 32 : 686-90.
4. Hartmann RC, Jenkins DE, McKee LC, Heyssel RM. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria : clinical and laboratory studies relating to iron metabolism and therapy with androgen and iron. *Medicine (Baltimore)* 1966 ; 45 : 331-63.
5. Borowitz MJ, Craig FE, Digiuseppe JA, *et al.* Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom* 2010 ; 78 : 211-30.
6. Parker C, Omine M, Richards S, *et al.* Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2005 ; 106 : 3699-709.
7. Richards SJ, Hill A, Hillmen P. Recent advances in the diagnosis, monitoring, and management of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Cytometry B Clin Cytom* 2007 ; 72 : 291-8.
8. Rother RP, Bell L, Hillmen P, Gladwin MT. The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin : a novel mechanism of human disease. *JAMA* 2005 ; 293 : 1653-62.
9. Hill A, Kelly RJ, Hillmen P. Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2013 ; 121 : 4985-96, quiz : 5105.
10. Helley D, de Latour RP, Porcher R, *et al.* Evaluation of hemostasis and endothelial function in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria receiving eculizumab. *Haematologica* 2010 ; 95 : 574-81.
11. Socié G, Mary JY, de Gramont A, *et al.* Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria : long-term follow-up and prognostic factors. French Society of Haematology. *Lancet Lond Engl* 1996 ; 348 : 573-7.
12. Lee JW, Jang JH, Kim JS, *et al.* Clinical signs and symptoms associated with increased risk for thrombosis in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria from a Korean Registry. *Int J Hematol* 2013 ; 97 : 749-57.
13. de Latour RP, Mary JY, Salanoubat C, *et al.* Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria : natural history of disease subcategories. *Blood* 2008 ; 112 : 3099-106.
14. Socié G, Schrezenmeier H, Muus P, *et al.* Changing prognosis in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria disease subcategories : an analysis of the International PNH Registry. *Intern Med J* 2016 ; 46 : 1044-53.
15. Kautz L, Jung G, Du X, *et al.* Erythroferrone contributes to hepcidin suppression and iron overload in a mouse model of  $\beta$ -thalassemia. *Blood* 2015 ; 126 : 2031-7.
16. Hillmen P, Muus P, Dührsen U, *et al.* Effect of the complement inhibitor eculizumab on thromboembolism in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2007 ; 110 : 4123-8.
17. Brodsky RA. How I treat paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2009 ; 113 : 6522-7.
18. Hillmen P, Muus P, Röth A, *et al.* Long-term safety and efficacy of sustained eculizumab treatment in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol* 2013 ; 162 : 62-73.
19. Hill A, Rother RP, Arnold L, *et al.* Eculizumab prevents intravascular hemolysis in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and unmasks low-level extravascular hemolysis occurring through C3 opsonization. *Haematologica* 2010 ; 95 : 567-73.