

HEMOGLOBINURIE PAROXYSTIQUE NOCTURNE

DEFINITION

L'Hémoglobinurie Paroxystique Nocturne (HPN) est une maladie rare résultant d'une mutation clonale acquise sur le gène *PIG-A* (phosphatidylinositol glycan A), impliqué dans la synthèse d'un sucre, le glycosylphosphatidylinositol (GPI), servant d'ancrage aux protéines membranaires. Cette mutation survenant dans une cellule souche hématopoïétique, l'anomalie clonale porte sur l'ensemble des lignées sanguines. Elle entraîne donc la production de cellules sanguines déficientes en protéines de surface dont la fonction est de protéger les cellules contre l'attaque du complément.

La maladie peut survenir d'emblée sous forme d'anémie hémolytique acquise ou secondairement, par apparition d'un clone HPN au cours d'une aplasie médullaire.

Classiquement, l'HPN s'exprime par une anémie hémolytique apparaissant chez un adulte jeune (moyenne d'âge au diagnostic 33 ans ; mais 15 % ont moins de 16 ans), accompagnée d'urines foncées le matin et, parfois d'un ictère. La complication majeure venant souvent grever le pronostic des patients est la survenue de thromboses, qui peuvent aussi être inaugurales.

Synonyme : syndrome de Marchiafava-Michelli.

BIOPATHOLOGIE

Dès les premières descriptions de la maladie au début du siècle dernier, il a été démontré une sensibilité anormale des globules rouges à l'action lytique du complément. Dans les années 1980, plusieurs auteurs ont montré l'absence d'expression de deux protéines dont le rôle est d'inhiber l'action du complément, à la surface des globules rouges de patients atteints d'HPN : ces protéines sont le *Decay accelerating factor* (DAF ou CD55) et le *Membrane inhibitor of reactive lysis* (MIRL ou CD59).

La maladie HPN s'explique donc par un défaut d'expression de plusieurs protéines membranaires, résultant de l'absence de synthèse d'une ancre glycosylphosphatidylinositol (GPI) due à une mutation sur le gène *PIG A*, gène constitué de 6 exons et localisé sur le bras court du chromosome X. La mutation génétique concerne une population clonale de cellules souches hématopoïétiques multipotentes. Le déficit en protéines membranaires nécessitant le GPI pour leur ancrage, atteint ainsi l'ensemble des cellules

hématopoïétiques (hématies, polynucléaires, monocytes, plaquettes, lymphocytes).

Dans 75 % des cas, la mutation sur *PIG-A* à l'origine de ces déficits entraîne une abolition complète de l'activité du gène. Dans 25 % des cas, il reste une fraction active. Les mutations connues à ce jour (174 décrites en 2000) se situent sur l'ensemble du gène, ce qui complique leur recherche.

■ CLINIQUE

La principale manifestation de la maladie est l'hémolyse intravasculaire et l'hémoglobinurie qui en résulte. Les poussées d'hémolyse surviennent surtout la nuit, lors de la baisse du pH sanguin. En effet, le déficit en CD55 et CD59 entraîne une forte sensibilité des hématies à la lyse provoquée par le complément qui est activé à pH acide.

Les principales complications sont thromboemboliques (incidence élevée : 25 % à 5 ans), notamment au niveau de sites inhabituels (thromboses de la veine porte, des veines sus-hépatiques, thromboses cérébrales...). Les autres complications sont des infections récurrentes et des crises douloureuses abdominales (microthromboses mésentériques ?).

L'évolution se fait vers une insuffisance médullaire sévère, voire exceptionnellement vers une leucémie aiguë. Il existe toutefois des formes stables au long cours, voire même régressives.

INDICATIONS DU DOSAGE

- Suspicion de maladie HPN dans les contextes suivants :
- anémie hémolytique intravasculaire avec test de Coombs négatif,
 - hémoglobinurie,
 - thrombose veineuse de localisation inhabituelle.

RECOMMANDATIONS PREANALYTIQUES

■ PRELEVEMENT

Sang total prélevé sur EDTA. En cas de recherche moléculaire, les prélèvements sur héparine sont à proscrire.

■ QUESTIONS A POSER AU PATIENT

Transfusion récente ? Une période sans transfusion sanguine d'au moins 1 mois est recommandée pour évaluer la population érythrocytaire atteinte.

■ CONSERVATION ET TRANSPORT

Le prélèvement doit être acheminé au laboratoire à + 4 °C dans les plus brefs délais (transport < 24 h) ; il ne peut être congelé.

METHODES DE DOSAGE

Pour information, les tests « historiques » pour le diagnostic de l'HPN reposaient sur la mise en évidence d'une hyperhémolyse *in vitro* en présence de solutions acides : test d'hémolyse en sérum acidifié (Test de Ham-Dacie) et test d'hémolyse à faible force ionique (Test du sucrose). Dans le test d'Ham-Dacie, les hématies du patient étaient incubées avec du plasma normal à un pH acide. Dans ces conditions, le complément activé détruit les hématies déficientes. Les tests étaient significatifs si l'hémolyse dépassait les 10 %. Mais ces deux tests manquaient de sensibilité.

Aujourd'hui, le diagnostic de l'HPN se fait essentiellement par cytométrie de flux. Le clone HPN est recherché principalement sur les lignées érythrocytaires et granulocytaires. L'étude de la population leucocytaire est plus précise car la demi-vie des leucocytes n'est pas diminuée en cas de HPN contrairement à celle des hématies. De plus, la quantité de leucocytes est indépendante des antécédents de transfusions. Les anticorps utilisés sont dirigés contre CD55 et CD59 sur les hématies et les granulocytes, CD16 sur les granulocytes, CD14 sur les monocytes. Certains auteurs recommandent d'analyser au moins deux protéines du système GPI pour éviter une erreur d'interprétation en cas de déficit spécifique d'une des protéines.

Les résultats obtenus sont exprimés en % de cellules négatives (importance relative du clone) et/ou en moyenne d'intensité de fluorescence (unité arbitraire en échelle logarithmique). La sensibilité de la cytométrie en flux pour le diagnostic d'un déficit en molécules GPI permet de détecter des clones HPN de faible importance. En pratique, le déficit est significatif si le pourcentage des cellules est supérieur à 5 %.

Enfin, l'analyse moléculaire du gène *PIG-A* peut aussi être réalisée. Compte tenu du nombre élevé de mutations décrites, l'utilisation de puces à ADN pourrait faciliter l'analyse en permettant un dépistage de l'ensemble des mutations *PIG A* connus.

VALEURS DE REFERENCE

Les individus sains n'ont pas de clones HPN, dans aucune lignée cellulaire.

VARIATIONS PATHOLOGIQUES

En cas de maladie HPN, la cytométrie en flux met en évidence une diminution de l'expression de CD16 sur les granulocytes, de CD14 sur les monocytes, de CD55 et de CD59 sur les hématies et les granulocytes (antigènes membranaires tous GPI-dépendants).

Diagnostic non spécifique : les patients atteints d'HPN ont une concentration plasmatique élevée de LDH. Une leuconéutropénie est associée à l'anémie dans environ

un cas sur deux ; une thrombopénie (modérée) dans 80 % des cas.

NB : une fois le diagnostic établi, il est recommandé de procéder à une réévaluation tous les 6 mois pendant deux ans pour vérifier la stabilité de la maladie.

TRAITEMENT

Il consiste principalement en des transfusions sanguines et, dans les formes sévères, en une allogreffe de moelle osseuse. L'eculizumab, un anticorps monoclonal recombinant inhibant l'activation des composants terminaux du complément, a montré son efficacité à réduire l'hémolyse intra-vasculaire, stabiliser la concentration en hémoglobine et éviter la transfusion de culots globulaires chez les patients atteints d'HPN.

POUR EN SAVOIR PLUS

- Parker C., Omine M., Richards S., et al. *Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*, Blood, 2005; 106 (12):3699-3709
- Krauss, J.-S., *Laboratory diagnosis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*, Ann Clin Lab Sci 2003; 33 (4):401-406.
- Rosse W., *Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria*, Orphanet Encyclopedia, 2004.
- Hillmen P., Young N.S., Schubert J. et al., *The complement inhibitor eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*, New Eng J Med 2006; 355:1233-1243.