

UNIVERSITE MOHAMMED V
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT-

ANNEE: 2010

THESE N°: 46

**HEMOGLOBINURIE paroxystique nocturne
donnees de la litterature**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le :.....

PAR

M^{lle}.BOULKAM Fatima.

Né le 07/03/1983 à Tiznit

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES: Hémoglobinurie paroxystique nocturne , Gène et protéines GPI, CD55, CD59,
Hyperhémolyse. .

JURY

Mr. A.THIMOU

Professeur de Pédiatrie

Mr.A.MASRAR

Professeur d'hématologie et biologie

Mr. A.BELMEKKI

Professeur agrégé d'hématologie

Mr. N.MESSAOUDI

Professeur agrégé d'hématologie

PRESIDENT

RAPPORTEUR

JUGES

سُبْحَانَكَ

لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا بِكَ مَا عَلَّمْنَا

إِنَّا أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

(البقرة: من الآية 32)

**UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT**

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Docteur Ahdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI

ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Najia HAJJAJ
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et Etudiantines
Professeur Mohammed JIDDANE
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Ali Benomar
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Yahia CHERRAH
Secrétaire Général : Monsieur El Hassan Ahallat

PROFESSEURS :

Décembre 1967

1. Pr. TOUNSI Abdelkader Pathologie Chirurgicale

Février, Septembre, Décembre 1973

2. Pr. ARCHANE My Idriss* Pathologie Médicale
3. Pr. BENOMAR Mohammed Cardiologie
4. Pr. CHAOUI Abdellatif Gynécologie Obstétrique
5. Pr. CHKILI Taieb Neuropsychiatrie

Janvier et Décembre 1976

6. Pr. HASSAR Mohamed Pharmacologie Clinique

Février 1977

7. Pr. AGOUMI Abdelaziz Parasitologie
8. Pr. BENKIRANE ép. AGOUMI Najia Hématologie
9. Pr. EL BIED ép. IMANI Farida Radiologie

Février Mars et Novembre 1978

10. Pr. ARHARBI Mohamed Cardiologie
11. Pr. SLAOUI Ahdelmalek Anesthésie Réanimation

Mars 1979

12. Pr. LAMDOUAR ép. BOUAZZAOUI Naima Pédiatrie

Mars, Avril et Septembre 1980

13. Pr. EL KHAMLICHI Abdeslam Neurochirurgie
14. Pr. MESBAHI Redouane Cardiologie

Mai et Octobre 1981

- 15. Pr. BENOMAR Said*
- 16. Pr. BOUZOUBAA Abdelmajid
- 17. Pr. EL MANOUAR Mohamed
- 18. Pr. HAMMANI Ahmed*
- 19. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih
- 20. Pr. SBIHI Ahmed
- 21. Pr. TAOBANE Hamid*

Anatomie Pathologique
Cardiologie
Traumatologie-Orthopédie
Cardiologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

- 22. Pr. ABROUQ Ali*
- 23. Pr. BENOMAR M'hammed
- 24. Pr. BENSOUA Mohamed
- 25. Pr. BENOSMAN Abdellatif
- 26. Pr. CHBICHEB Abdelkrim
- 27. Pr. JIDAL Bouchaib*
- 28. Pr. LAHBABI ép. AMRANI Naïma

Oto-Rhino-Laryngologie
Chirurgie-Cardio-Vasculaire
Anatomie
Chirurgie Thoracique
Biophysique
Chirurgie Maxillo-faciale
Physiologie

Novembre 1983

- 29. Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir*
- 30. Pr. BALAFREJ Amina
- 31. Pr. BELLAKHDAR Fouad
- 32. Pr. HAJJAJ ép. HASSOUNI Najia
- 33. Pr. SRAIRI Jamal-Eddine

Pneumo-phtisiologie
Pédiatrie
Neurochirurgie
Rhumatologie
Cardiologie

Décembre 1984

- 34. Pr. BOUCETTA Mohamed*
- 35. Pr. EL OUEDDARI Brahim El Khalil
- 36. Pr. MAAOUNI Abdelaziz
- 37. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
- 38. Pr. NAJI M'Barek *
- 39. Pr. SETTAF Abdellatif

Neurochirurgie
Radiothérapie
Médecine Interne
Anesthésie -Réanimation
Immuno-Hématologie
Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

- 40. Pr. BENJELLOUN Halima
- 41. Pr. BENSALD Younes
- 42. Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa
- 43. Pr. IHRAI Hssain *
- 44. Pr. IRAQI Ghali
- 45. Pr. KZADRI Mohamed

Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Neurologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale
Pneumo-phtisiologie
Oto-Rhino-laryngologie

Janvier, Février et Décembre 1987

- 46. Pr. AJANA Ali
- 47. Pr. AMMAR Fanid
- 48. Pr. CHAHED OUAZZANI ép.TAOBANE Houria
- 49. Pr. EL FASSY FIIHRI Mohamed Taoufiq
- 50. Pr. EL HAITEM Naïma
- 51. Pr. EL MANSOURI Abdellah*
- 52. Pr. EL YAACOUBI Moradh
- 53. Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
- 54. Pr. LACHKAR Hassan

Radiologie
Pathologie Chirurgicale
Gastro-Entérologie
Pneumo-phtisiologie
Cardiologie
Chimie-Toxicologie Expertise
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne

55. Pr. OHAYON Victor*
56. Pr. YAHYAOUI Mohamed

Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

57. Pr. BENHMAMOUCHE Mohamed Najib
58. Pr. DAFIRI Rachida
59. Pr. FAIK Mohamed
60. Pr. FIKRI BEN BRAHIM Noureddine
61. Pr. HERMAS Mohamed
62. Pr. TOULOUNE Farida*

Chirurgie Pédiatrique
Radiologie
Urologie
Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
Traumatologie Orthopédie
Médecine Interne

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

63. Pr. ABIR ép. KHALIL Saadia
64. Pr. ACHOUR Ahmed*
65. Pr. ADNAOUI Mohamed
66. Pr. AOUNI Mohamed
67. Pr. AZENDOUR BENACEUR*
68. Pr. BENAMEUR Mohamed*
69. Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali
70. Pr. CHAD Bouziane
71. Pr. CHKOFF Rachid
72. Pr. FARCHADO Fouzia ép. BENABDELLAH
73. Pr. HACHIM Mohammed*
74. Pr. HACHIMI Mohamed
75. Pr. KHARBACH Aïcha
76. Pr. MANSOURI Fatima
77. Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda
78. Pr. SEDRATI Omar*
79. Pr. TAZI Saoud Anas
80. Pr. TERHZZAZ Abdellah*

Cardiologie
Chirurgicale
Médecine Interne
Médecine Interne
Oto-Rhino-Laryngologie
Radiologie
Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Pathologie Chirurgicale
Pédiatrique
Médecine-Interne
Urologie
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Neurologie
Dermatologie
Anesthésie Réanimation
Ophtalmologie

Février Avril Juillet et Décembre 1991

81. Pr. AL HAMANY Zaïtounia
82. Pr. ATMANI Mohamed*
83. Pr. AZZOUZI Abderrahim
84. Pr. BAYAHIA ép. HASSAM Rabéa
85. Pr. BELKOUCHI Abdelkader
86. Pr. BENABDELLAH Chahrazad
87. Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdelatif
88. Pr. BENSOUDA Yahia
89. Pr. BERRAHO Amina
90. Pr. BEZZAD Rachid
91. Pr. CHABRAOUI Layachi
92. Pr. CHANA El Houssaine*
93. Pr. CHERRAH Yahia
94. Pr. CHOKAIRI Omar
95. Pr. FAJRI Ahmed*
96. Pr. JANATI Idrissi Mohamed*
97. Pr. KHATTAB Mohamed
98. Pr. NEJMI Maati
99. Pr. OUAALINE Mohammed*

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chirurgie Générale
Hématologie
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Ophtalmologie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Psychiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Anesthésie-Réanimation
Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène

100. Pr. SOULAYMANI ép.BENCHEIKH Rachida
101. Pr. TAOUFIK Jamal

Pharmacologie
Chimie thérapeutique

Décembre 1992

102. Pr. AHALLAT Mohamed
103. Pr. BENOUDA Amina
104. Pr. BENSOUA Adil
105. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
106. Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza
107. Pr. CHAKIR Nouredine
108. Pr. CHRAIBI Chafiq
109. Pr. DAOUDI Rajae
110. Pr. DEHAYNI Mohamed*
111. Pr. EL HADDOURY Mohamed
112. Pr. EL OUAHABI Abdessamad
113. Pr. FELLAT Rokaya
114. Pr. GHAFIR Driss*
115. Pr. JIDDANE Mohamed
116. Pr. OUAZZANI TAIBI Med Charaf Eddine
117. Pr. TAGHY Ahmed
118. Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale
Microbiologie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Anesthésie Réanimation
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale
Microbiologie

Mars 1994

119. Pr. AGNAOU Lahcen
120. Pr. AL BAROUDI Saad
121. Pr. ARJI Moha*
122. Pr. BENCHERIFA Fatiha
123. Pr. BENJAAFAR Nouredine
124. Pr. BENJELLOUN Samir
125. Pr. BENRAIS Nozha
126. Pr. BOUNASSE Mohammed*
127. Pr. CAOUI Malika
128. Pr. CHRAIBI Abdelmjid
129. Pr. EL AMRANI ép. AHALLAT Sabah
130. Pr. EL AOUDAD Rajae
131. Pr. EL BARDOUNI Ahmed
132. Pr. EL HASSANI My Rachid
133. Pr. EL IDRISSE LAMGHARI Abdennaceur
134. Pr. EL KIRAT Abdelmajid*
135. Pr. ERROUGANI Abdelkader
136. Pr. ESSAKALI Malika
137. Pr. ETTAYEBI Fouad
138. Pr. HADRI Larbi*
139. Pr. HDA Ali*
140. Pr. HASSAM Badredine
141. Pr. IFRINE Lahssan
142. Pr. JELTHI Ahmed
143. Pr. MAHFOUD Mustapha
144. Pr. MOUDENE Ahmed*
145. Pr. MOSSEDDAQ Rachid*
146. Pr. OULBACHA Said
147. Pr. RHRAB Brahim

Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Anesthésie Réanimation
Ophtalmologie
Radiothérapie
Chirurgie Générale
Biophysique
Pédiatrie
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métabolique
Gynécologie Obstétrique
Immunologie
Traumato Orthopédie
Radiologie
Médecine Interne
Chirurgie Cardio- Vasculaire
Chirurgie Générale
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie Orthopédie
Traumatologie Orthopédie
Neurologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique

148. Pr. SENOUCI ép. BELKHADIR Karima
149. Pr. SLAOUI Anas

Dermatologie
Chirurgie Cardio-vasculaire

Mars 1994

150. Pr. ABBAR Mohamed*
151. Pr. ABDELHAK M'barek
152. Pr. BELAIDI Halima
153. Pr. BARHMI Rida Slimane
154. Pr. BENTAHILA Abdelali
155. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
156. Pr. BERRADA Mohamed Saleh
157. Pr. CHAMI Ilham
158. Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
159. Pr. EL ABBADI Najia
160. Pr. HANINE Ahmed*
161. Pr. JALIL Abdelouahed
162. Pr. LAKHDAR Amina
163. Pr. MOUANE Nezha

Urologie
Chirurgie - Pédiatrique
Neurologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Gynécologie -Obstétrique
Traumatologie -Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Neurochirurgie
Radiologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

164. Pr. ABOUQUAL Redouane
165. Pr. AMRAOUI Mohamed
166. Pr. BAIDADA Abdelaziz
167. Pr. BARGACH Samir
168. Pr. BELLAHNECH Zakaria
169. Pr. BEDDOUCHE Amoqrane*
170. Pr. BENAZZOUZ Mustapha
171. Pr. CHAARI Jilali*
172. Pr. DIMOU M'barek*
173. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine*
174. Pr. EL MESNAOUI Abbes
175. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
176. Pr. FERHATI Driss
177. Pr. HASSOUNI Fadil
178. Pr. HDA Abdelhamid*
179. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
180. Pr. IBRAHIMY Wafaa
182. Pr. BENOMAR ALI
183. Pr. BOUGTAB Abdesslam
184. Pr. ER RIHANI Hassan
185. Pr. EZZAITOUNI Fatima
186. Pr. KABBAJ Najat
187. Pr. LAZRAK Khalid (M)
188. Pr. OUTIFA Mohamed*

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Urologie
Urologie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Gynécologie Obstétrique
Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
Cardiologie
Urologie
Ophtalmologie
Neurologie
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Néphrologie
Radiologie
Traumatologie Orthopédie
Gynécologie Obstétrique

Décembre 1996

189. Pr. AMIL Touriya*
190. Pr. BELKACEM Rachid
191. Pr. BELMAHI Amin
192. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
193. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
194. Pr. EL MELLOUKI Ouafae*
195. Pr. GAMRA Lamiae

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Chirurgie réparatrice et plastique
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Parasitologie
Anatomie Pathologique

196. Pr. GAOUZI Ahmed
197. Pr. MAHFOUDI M'barek*
198. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid
199. Pr. MOHAMMADI Mohamed
200. Pr. MOULINE Soumaya
201. Pr. OUADGHIRI Mohamed
202. Pr. OUZEDDOUN Naima
203. Pr. ZBIR EL Mehdi*

Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Générale
Médecine Interne
Pneumo-phtisiologie
Traumatologie – Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie

Novembre 1997

204. Pr. ALAMI Mohamed Hassan
205. Pr. BEN AMAR Abdesselem
206. Pr. BEN SLIMANE Lounis
207. Pr. BIROUK Nazha
208. Pr. BOULAICH Mohamed
209. Pr. CHAOUIR Souad*
210. Pr. DERRAZ Said
211. Pr. ERREIMI Naima
212. Pr. FELLAT Nadia
213. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra
214. Pr. HAIMEUR Charki*
215. Pr. KADDOURI Nouredine
216. Pr. KANOUNI NAWAL
217. Pr. KOUTANI Abdellatif
218. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
219. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
220. Pr. NAZZI M'barek*
221. Pr. OUAHABI Hamid*
222. Pr. SAFI Lahcen*
223. Pr. TAOUFIQ Jallal
224. Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie – Obstétrique
Chirurgie Générale
Urologie
Neurologie
O.RL.
Radiologie
Neurochirurgie
Pédiatrie
Cardiologie
Radiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie – Pédiatrique
Physiologie
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Cardiologie
Neurologie
Anesthésie Réanimation
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

225. Pr. BENKIRANE Majid*
226. Pr. KHATOUI Ali*
227. Pr. LABRAIMI Ahmed*

Hématologie
Cardiologie
Anatomie Pathologique

Novembre 1998

228. Pr. AFIFI RAJAA
229. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali*
230. Pr. ALOUANE Mohammed*
231. Pr. LACHKAR Azouz
232. Pr. LAHLOU Abdou
233. Pr. MAFTAH Mohamed*
234. Pr. MAHASSINI Najat
235. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
236. Pr. MANSOURI Abdelaziz*
237. Pr. NASSIH Mohamed*
238. Pr. RIMANI Mouna
239. Pr. ROUIMI Abdelhadi

Gastro - Entérologie
Pneumo-phtisiologie
Oto- Rhino- Laryngologie
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Neurochirurgie
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Neurochirurgie
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo Faciale
Anatomie Pathologique
Neurologie

Janvier 2000

240. Pr. ABID Ahmed*

Pneumo-phtisiologie

241. Pr. AIT OUMAR Hassan
 242. Pr. BENCHERIF My Zahid
 243. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd
 244. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
 245. Pr. CHAOUI Zineb
 246. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
 247. Pr. ECHARRAB El Mahjoub
 248. Pr. EL FTOUH Mustapha
 249. Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
 250. Pr. EL OTMANYAzzedine
 251. Pr. GHANNAM Rachid
 252. Pr. HAMMANI Lahcen
 253. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim
 254. Pr. ISMAILI Hassane*
 255. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss
 256. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
 257. Pr. TACHINANTE Rajae
 258. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Pédiatrie
 Pneumo-phtisiologie
 Ophtalmologie
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Générale
 Pneumo-phtisiologie
 Neurochirurgie
 Chirurgie Générale
 Cardiologie
 Radiologie
 Anesthésie-Réanimation
 Traumatologie Orthopédie
 Gastro-Entérologie
 Anesthésie-Réanimation
 Anesthésie-Réanimation
 Médecine Interne

Novembre 2000

259. Pr. AIDI Saadia
 260. Pr. AIT OURHROUIL Mohamed
 261. Pr. AJANA Fatima Zohra
 262. Pr. BENAMR Said
 263. Pr. BENCHEKROUN Nabih
 264. Pr. BOUSSELMANE Nabile*
 265. Pr. BOUTALEB Najib*
 266. Pr. CHERTI Mohammed
 267. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
 268. Pr. EL HASSANI Amine
 269. Pr. EL IDGHIRI Hassan
 270. Pr. EL KHADER Khalid
 271. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
 272. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
 273. Pr. HSSAIDA Rachid*
 274. Pr. MANSOURI Aziz
 275. Pr. OUZZANI CHAHDI Bahia
 276. Pr. RZIN Abdelkader*
 277. Pr. SEFIANI Abdelaziz
 278. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Neurologie
 Dermatologie
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Générale
 Ophtalmologie
 Traumatologie Orthopédie
 Neurologie
 Cardiologie
 Anesthésie-Réanimation
 Pédiatrie
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Urologie
 Rhumatologie
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Anesthésie-Réanimation
 Radiothérapie
 Ophtalmologie
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Génétique
 Réanimation Médicale

PROFESSEURS AGREGES :

Décembre 2001

279. Pr. ABABOU Adil
 280. Pr. AOUAD Aicha
 281. Pr. BALKHI Hicham*
 282. Pr. BELMEKKI Mohammed
 283. Pr. BENABDELJLIL Maria
 284. Pr. BENAMAR Loubna
 285. Pr. BENAMOR Jouda
 286. Pr. BENELBARHDADI Imane
 287. Pr. BENNANI Rajae
 288. Pr. BENOUACHANE Thami
 289. Pr. BENYOUSSEF Khalil

Anesthésie-Réanimation
 Cardiologie
 Anesthésie-Réanimation
 Ophtalmologie
 Neurologie
 Néphrologie
 Pneumo-phtisiologie
 Gastro-Entérologie
 Cardiologie
 Pédiatrie
 Dermatologie

290. Pr. BERRADA Rachid
 291. Pr. BEZZA Ahmed*
 292. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
 293. Pr. BOUHOUCHE Rachida
 294. Pr. BOUMDIN El Hassane*
 295. Pr. CHAT Latifa
 296. Pr. CHELLAOUI Mounia
 297. Pr. DAALI Mustapha*
 298. Pr. DRISSE Sidi Mourad*
 299. Pr. EL HAJOUI Ghziel Samira
 300. Pr. EL HIJRI Ahmed
 301. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
 302. Pr. EL MADHI Tarik
 303. Pr. EL MOUSSAIF Hamid
 304. Pr. EL OUNANI Mohamed
 305. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil
 306. Pr. ETTAIR Saïd
 307. Pr. GAZZAZ Miloudi*
 308. Pr. GOURINDA Hassan
 309. Pr. HRORA Abdelmalek
 310. Pr. KABBAJ Saad
 311. Pr. KABIRI El Hassane*
 312. Pr. LAMRANI Moulay Omar
 313. Pr. LEKEHAL Brahim
 314. Pr. MAHASSIN Fattouma*
 315. Pr. MEDARHRI Jalil
 316. Pr. MIKDAME Mohammed*
 317. Pr. MOHSINE Raouf
 318. Pr. NABIL Samira
 319. Pr. NOUINI Yassine
 320. Pr. OUALIM Zouhir*
 321. Pr. SABBAAH Farid
 322. Pr. SEFIANI Yasser
 323. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia
 324. Pr. TAZI MOUKHA Karim

Gynécologie Obstétrique
 Rhumatologie
 Anatomie
 Cardiologie
 Radiologie
 Radiologie
 Radiologie
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Gynécologie Obstétrique
 Anesthésie-Réanimation
 Neuro-Chirurgie
 Chirurgie-Pédiatrique
 Ophtalmologie
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Pédiatrie
 Neuro-Chirurgie
 Chirurgie-Pédiatrique
 Chirurgie Générale
 Anesthésie-Réanimation
 Chirurgie Thoracique
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Médecine Interne
 Chirurgie Générale
 Hématologie Clinique
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Urologie
 Néphrologie
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Pédiatrie
 Urologie

Décembre 2002

325. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
 326. Pr. AMEUR Ahmed*
 327. Pr. AMRI Rachida
 328. Pr. AOURARH Aziz*
 329. Pr. BAMOU Youssef *
 330. Pr. BELGHITI Laila
 331. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
 332. Pr. BENBOUAZZA Karima
 333. Pr. BENZEKRI Laila
 334. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*
 335. Pr. BERADY Samy*
 336. Pr. BERNOUSSI Zakiya
 337. Pr. BICHA Mohamed Zakarya
 338. Pr. CHOHO Abdelkrim *
 339. Pr. CHKIRATE Bouchra
 340. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
 341. Pr. EL ALJ Haj Ahmed

Anatomie Pathologique
 Urologie
 Cardiologie
 Gastro-Entérologie
 Biochimie-Chimie
 Gynécologie Obstétrique
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Rhumatologie
 Dermatologie
 Gastro – Entérologie
 Médecine Interne
 Anatomie Pathologique
 Psychiatrie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Chirurgie Pédiatrique
 Urologie

342. Pr. EL BARNOUSSI Leila
 343. Pr. EL HAOURI Mohamed *
 344. Pr. EL MANSARI Omar*
 345. Pr. ES-SADEL Abdelhamid
 346. Pr. FILALI ADIB Abdelhai
 347. Pr. HADDOUR Leila
 348. Pr. HAJJI Zakia
 349. Pr. IKEN Ali
 350. Pr. ISMAEL Farid
 351. Pr. JAAFAR Abdeloihab*
 352. Pr. KRIOULE Yamina
 353. Pr. LAGHMARI Mina
 354. Pr. MABROUK Hfid*
 355. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
 356. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
 357. Pr. MOUSTAINE My Rachid
 358. Pr. NAITLHO Abdelhamid*
 359. Pr. OUIJILAL Abdelilah
 360. Pr. RACHID Khalid *
 361. Pr. RAISS Mohamed
 362. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
 363. Pr. RHOU Hakima
 364. Pr. RKIOUAK Fouad*
 365. Pr. SIAH Samir *
 366. Pr. THIMOU Amal
 367. Pr. ZENTAR Aziz*
 368. Pr. ZRARA Ibtisam*

Gynécologie Obstétrique
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Ophtalmologie
 Urologie
 Traumatologie Orthopédie
 Traumatologie Orthopédie
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Traumatologie Orthopédie
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Traumatologie Orthopédie
 Médecine Interne
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Générale
 Pneumo-phtisiologie
 Néphrologie
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Anesthésie Réanimation
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale
 Anatomie Pathologique

Janvier 2004

369. Pr. ABDELLAH El Hassan
 370. Pr. AMRANI Mariam
 371. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
 372. Pr. BENKIRANE Ahmed*
 373. Pr. BENRAMDANE Larbi*
 374. Pr. BOUGHALEM Mohamed*
 375. Pr. BOULAADAS Malik
 376. Pr. BOURAZZA Ahmed*
 377. Pr. CHERRADI Nadia
 378. Pr. EL FENNI Jamal*
 379. Pr. EL HANCI Zaki
 380. Pr. EL KHORASSANI Mohamed
 381. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
 382. Pr. HACHI Hafid
 383. Pr. JABOUIRIK Fatima
 384. Pr. KARMANE Abdelouahed
 385. Pr. KHABOUZE Samira
 386. Pr. KHARMAZ Mohamed
 387. Pr. LEZREK Mohammed*
 388. Pr. MOUGHIL Said
 389. Pr. NAOUMI Asmae*
 390. Pr. SAADI Nozha
 391. Pr. SASSENOU Ismail*
 392. Pr. TARIB Abdelilah*

Ophtalmologie
 Anatomie Pathologique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Gastro-Entérologie
 Chimie Analytique
 Anesthésie Réanimation
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Neurologie
 Anatomie Pathologique
 Radiologie
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique
 Traumatologie Orthopédie
 Urologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique
 Gastro-Entérologie
 Pharmacie Clinique

393. Pr. TIJAMI Fouad
394. Pr. ZARZUR Jamila

Chirurgie Générale
Cardiologie

Janvier 2005

395. Pr. ABBASSI Abdelah
396. Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
397. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
398. Pr. ALLALI fadoua
399. Pr. AMAR Yamama
400. Pr. AMAZOUZI Abdellah
401. Pr. AZIZ Nouredine*
402. Pr. BAHIRI Rachid
403. Pr. BARAKAT Amina
404. Pr. BENHALIMA Hanane
405. Pr. BENHARBIT Mohamed
406. Pr. BENYASS Aatif
407. Pr. BERNOUSSI Abdelghani
408. Pr. BOUKALATA Salwa
409. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed
410. Pr. DOUDOUH Abderrahim*
411. Pr. EL HAMZA OUI Sakina
412. Pr. HAJJI Leila
413. Pr. HESSISSEN Leila
414. Pr. JIDAL Mohamed*
415. Pr. KARIM Abdelouahed
416. Pr. KENDOUCI Mohamed*
417. Pr. LAAROUSSI Mohamed
418. Pr. LYACOUBI Mohammed
419. Pr. NIAMANE Radouane*
420. Pr. RAGALA Abdelhak
421. Pr. REGRAGUI Asmaa
422. Pr. SBIHI Souad
423. Pr. TNACHERI OUZZANI Btissam
424. Pr. ZERAIDI Najia

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Rhumatologie
Néphrologie
Ophtalmologie
Radiologie
Rhumatologie
Pédiatrie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
Ophtalmologie
Cardiologie
Ophtalmologie
Radiologie
Ophtalmologie
Biophysique
Microbiologie
Cardiologie
Pédiatrie
Radiologie
Ophtalmologie
Cardiologie
Chirurgie Cardio Vasculaire
Parasitologie
Rhumatologie
Gynécologie Obstétrique
Anatomie Pathologique
Histo Embryologie Cytogénétique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique

Avril 2006

425. Pr. ACHEMLAL Lahsen*
426. Pr. AFIFI Yasser
427. Pr. AKJOUJ Said*
428. Pr. BELGNAOUI Fatima Zahra
429. Pr. BELMEKKI Abdelkader*
430. Pr. BENCHEIKH Razika
431. Pr. BIYI Abdelhamid*
432. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
433. Pr. BOULAHYA Abdellatif*
434. Pr. CHEIKHA OUI Younes
435. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
436. Pr. DOGHMI Nawal
437. Pr. ESSAMRI Wafaa
438. Pr. FELLAT Ibteissam
439. Pr. FAROUDY Mamoun
440. Pr. GHADOUANE Mohammed*
441. Pr. HARMOUCHE Hicham

Rhumatologie
Dermatologie
Radiologie
Dermatologie
Hématologie
O.R.L
Biophysique
Chirurgie – Pédiatrique
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Urologie
Médecine Interne

- 442. Pr. HNAFI Sidi Mohamed*
- 443. Pr. IDRIS LAHLOU Amine
- 444. Pr. JROUNDI Laila
- 445. Pr. KARMOUNI Tariq
- 446. Pr. KILI Amina
- 447. Pr. KISRA Hassan
- 448. Pr. KISRA Mounir
- 449. Pr. KHARCHAFI Aziz*
- 450. Pr. LMIMOUNI Badreddine*
- 451. Pr. MANSOURI Hamid*
- 452. Pr. NAZIH Naoual
- 453. Pr; OUANASS Abderrazzak
- 454. Pr. SAFI Soumaya*
- 455. Pr. SEKKAT Fatima Zahra
- 456. Pr. SEFIANI Sana
- 457. Pr. SOUALHI Mouna
- 458. Pr. ZAHRAOUI Rachida

Anesthésie Réanimation
 Microbiologie
 Radiologie
 Urologie
 Pédiatrie
 Psychiatrie
 Chirurgie – Pédiatrique
 Médecine Interne
 Parasitologie
 Radiothérapie
 O.R.L
 Psychiatrie
 Endocrinologie
 Psychiatrie
 Anatomie Pathologique
 Pneumo-Phtisiologie
 Pneumo-Phtisiologie

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES
PROFESSEURS

- 1. Pr. ALAMI OUHABI Naima
- 2. Pr. ALAOUI KATIM
- 3. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
- 4. Pr. ANSAR M'hammed
- 5. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
- 6. Pr. BOURJOUANE Mohamed
- 7. Pr. DRAOUI Mustapha
- 8. Pr. EL GUESSABI Lahcen
- 9. Pr. ETTAIB Abdelkader
- 10. Pr. FAOUZI Moulay El Abbas
- 11. Pr. HMAMOUCHE Mohamed
- 12. Pr. REDHA Ahlam
- 13. Pr. TELLAL Saida*
- 14. Pr. TOUATI Driss
- 15. Pr. ZELLOU Amina

Biochimie
 Pharmacologie
 Histologie – Embryologie
 Chimie Organique et Pharmacie Chimique
 Applications Pharmaceutiques
 Microbiologie
 Chimie Analytique
 Pharmacognosie
 Zootechnie
 Pharmacologie
 Chimie Organique
 Biochimie
 Biochimie
 Pharmacognosie
 Chimie Organique

* *Enseignants Militaires*

DEDICACES

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,

L'amour, le respect et la reconnaissance...

Aussi, c'est tout simplement que

Je dédie cette thèse à ...

A Allah

*Tout puissant ; qui m'a inspiré
Qui m'a guidé dans le bon chemin
Je vous dois ce que je suis devenue
Louanges et remerciements
Pour votre clémence et miséricorde*

A la mémoire de mon père :

*Qui était et restera mon idole, j'espère avoir enfin exaucé son rêve
Que ce travail soit l'expression de mon amour et ma profonde reconnaissance pour
tous les principes qu'il m'a inculqué durant mon enfance.
Puisse Dieu tout puissant lui accorder sa clémence et sa miséricorde.*

A ma mère

*Veillez accepter ce modeste travail en reconnaissance des innombrables
sacrifices que vous avez consenti pour mon éducation et mon bien être.
Aucune dédicace ne saurait exprimer l'estime, le dévouement et le respect que je
vous porte.
Que Dieu tout puissant vous procure longue vie, afin que je puisse vous combler
à mon tour.*

A ma très chère sœur Fatiha:

*Je suis très honorée d'avoir une sœur comme toi
Je te dédie ce travail en témoignage du soutien que tu m'as accordé et en
reconnaissance de tous tes encouragements.*

*A Mon grand père Lhssen et mes grands-mères Fatima et
Rkiya*

*Je ne trouve pas les lettres pour vous exprimer tout ce que je ressens envers vous.
Vous avez toujours été à mes côtés, votre amour et votre confiance en moi m'ont
poussé vers l'avant et j'espère être à la hauteur de vos espérances.
Que dieu le tout puissant vous protège et vous procure longue vie.*

*A tous mes frères Ahmed Abdullah Hassan Omar Saïd et
Hicham :*

*A travers ce travail je vous exprime tout mon amour et mon affection.
Sans vous ma vie n'aurait pas eu le même goût, je vous remercie, et j'espère que
vous trouverez dans ce modeste travail, un réel motif de satisfaction.*

*A mes oncles Mbark Ahdad et lhoussin Ikizi et mes tantes
Naima Ahdad , Boulkam Khadija et Aicha*

*Veillez accepter l'expression de ma profonde gratitude pour votre soutien,
encouragements, et affection.
J'espère que vous retrouvez dans ce travail, le témoignage de mes sentiments
sincères et de mes vœux de santé et de bonheur.*

***A mes très chères amies :** Bellaguide Khouloud, Ait Lhssen Fadma ,
Amzrrar Laila , Asmae Omada, Lalla Alhomaidi , Samiha , Noura Escaf,
Hassaniya , Maria Boukaïci, Sfia Amzil, Hind et Zahra hamani, Fatima
et Mina Elbou, Mina et Fatiha Bourrou ...*

*Je vous remercie pour tous les moments agréables qu'on a passé ensemble, de
l'aide précieuse et de l'amitié que vous me portez.*

A mes familles maternelles et paternelles,

*Oncles, tantes, cousins et cousines au Maroc et ailleurs il me serait difficile de
vous citer tous.*

***A tous mes chers (es) amis (es) et à tous les étudiants de ma
promotion***

*Au nom de notre sincère amitié et nos souvenirs inoubliables
Je vous souhaite tout le bonheur et la réussite que vous méritez
Et j'espère que notre amitié restera intacte et durera pour toujours.*

***A tous les enseignants qui ont participé à ma formation depuis
que j'ai commencé mes études.***

***A tous ceux ou celles qui me sont chers et que j'ai omis
involontairement de citer.***

REMERCIEMENTS

*A NOTRE MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE :
Madame Pr. THIMOU Amal*

Professeur de Pédiatrie

*C'est un grand honneur que vous nous faites, en acceptant de présider le
jury de cette thèse.*

*Nous avons pu apprécier vos qualités d'écoute et d'attention à l'égard
des étudiants.*

*Veillez trouver ici cher Maître, l'expression de nos remerciements les
plus sincères et de notre profonde reconnaissance.*

*A NOTRE MAÎTRE ET RAPPORTEUR DE THÈSE :
Monsieur Pr. MASRAR Azlarab*

Professeur Agrégé d'hématologie biologique

*Vous m'avez fait le grand honneur et le plaisir d'être le rapporteur de
mon travail.*

*Nous avons toujours été inspirés de votre sagesse, votre rigueur
scientifique et l'extrême sérieux qui vous caractérisent.*

*Veillez accepter, cher maître, mes vifs remerciements et ma profonde
gratitude pour l'aide précieuse que vous m'avez accordée pour réaliser ce
travail.*

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE DE THÈSE :

Monsieur Pr. BELMEKKI Abdelkader

Professeur Agrégé d'hématologie

Le grand honneur que vous nous faite en acceptant de siéger dans ce jury est pour nous l'occasion de vous assurer notre admiration et notre profond respect.

Nous vous en remercions profondément.

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE DE THÈSE :

Madame Pr. MESSAOUDI Nezha

Professeur Agrégé d'hématologie biologique

Nous vous sommes infiniment reconnaissants pour le grand honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

Votre modestie et l'extrême courtoisie de votre accueil nous ont beaucoup marqués.

Nous vous prions, Monsieur le professeur d'accepter nos vifs remerciements et notre profonde reconnaissance.

LISTE DES ABREVIATIONS

Ac	: Anticorps
Ac Mo	: Anticorps monoclonal
AG	: Antigène
AM	: Aplasie médullaire
AVK	: Antivitamines K
CMF	: Cytométrie en flux
CSH	: Cellule souche hématopoïétique
CAM	: Complexe d'attaque membranaire
CD	: Cluster of differentiation
CSH	: Cellule souche hématopoïétique
DAF	: Decay accelerating factor
Dol-P-Man (DPM)	: Dolichol-phosphate-mannose
EtNP	: Ethanolamine phosphate
GPI	: Glycosyl phosphatidyl inositol
GlcN	: Glucosamine
GlcNAc	: Glucosamine N-acétyl
GPI-MT I	: α 1-4 GPI mannosyltransferase I
GPI-MT II	: α 1-6 mannosyltransferase II
GPI-TA	: GPI Transamidase
GlcNac-PI	: N-acétylglucosaminylphosphatidylinositol
GPI-AP	: Protéines GPI ancrées
Hb	: Hémoglobine
HPN	: Hémoglobinurie paroxystique nocturne
IRM	: Imagerie par résonance magnétique

LMA	: Leucémie myéloïde aigue
Man	: Mannose
MIRL	: Membrane inhibitor of reactive lysis
PAL	: Phosphatase alcaline
PE	: Phosphatidyl éthanolamine
PI	: Phosphatidyl inositol
PIG-A	: Phosphatidyl inositol glycan class A
PIPLC	: Phosphatidyl inositol phospholipase C
RE	: Réticulum endoplasmique
SBC	: Syndrome de Budd-Chiari
SMD	: Syndromes myélodysplasiques
SFH	: Société Française d'Hématologie
CFU	: Colony forming units

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
I.HISTORIQUE	2
II-EPIDEMIOLOGIE	5
1.Incidence.....	5
2.Circonstances de découverte	5

PREMIERE PARTIE : **DE LA PHYSIOPATHOLOGIE AU DIAGNOSTIC DE L'HPN**

I.PHYSIOPATHOLOGIE
1.Les cellules sanguines HPN	7
1.1.Sensibilité inormale des cellules HPN à l'action du complément	9
1.2 Défaut du système d'ancrage des protéines GPI.....	13
2.Aspects moléculaires de l'HPN.....	15
2.1.Structure du système d'ancrage GPI	15
2.2.Biosynthèse de l'ancre GPI	18
2.3. Gène PIG-A	26
3.Pathogénie.....	40
II-DESCRIPTION CLINIUE DE L'HPN	45
1.Aspects cliniques	45
2.Cas Particulier de la grossesse	53
III-DIAGNOSTIC BIOLOGIUE DE L'HPN.....	54
1.Circonstances de découverte	54
2.Test biologique	55
3.Méthodes de diagnostic biologique.....	58
4.Test immunocytologique en cytométrie de flux	63
5.Imagerie	66
6.Diagnostic différentiel	67

DEUXIEME PARTIE
ATTITUDE THERAPEUTIQUE DE L'HPN

1.Traitements spécifiques	69
2.Traitements symptomatiques et préventifs.....	75
LE VECU DES PATIENTS AU QUOTIDIEN	77
EVOLUTION NATURELLE ET PRONOSTIC	78
CONCLUSION.....	80
RESUME	
REFERENCES	

INTRODUCTION

L'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN) ou Maladie de Marchiafava-Micheli est une maladie acquise des cellules souches hématopoïétiques de nature clonale, atteignant les trois lignées, leucocytaire, érythrocytaire et plaquettaire et s'exprimant sur le plan phénotypique particulièrement dans la lignée érythrocytaire. Cette pathologie est due à des anomalies de la synthèse des protéines membranaires responsable de l'ancrage glycophospholipidique dans les cellules sanguines en particulier les protéines régulatrice du complément.

Elle est caractérisée par la sensibilité particulière des érythrocytes à l'action lytique du complément et par des accès d'hémolyse intravasculaire [1]. Les patient atteints d'HPN présentent une anémie hémolytique, corpusculaire acquise et récurrente, à Coombs négatif [2] qui peut être associée à une aplasie médullaire et se compliquer de thromboses et d'insuffisance rénale. Cette maladie est associée à une altération importante de la qualité de vie des patients [1].

Les progrès de la cytométrie en flux en font l'outil diagnostique de référence mettant en évidence le déficit d'un système d'ancrage des protéines membranaires à la surface cellulaire [1]. L'objectif de notre travail est de rapporter les données récentes sur la physiopathologie et les méthodes de diagnostic des HPN et de souligner les attitudes thérapeutiques dans cette pathologie.

HISTORIQUE

L'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN) est une entité clinique qui a d'abord été décrite par Gull en 1866 chez un patient asthénique qui avait présenté des urines rouges matinales occasionnelles. En 1882, Strubing a identifié le pigment éliminé dans les urines comme étant l'hémoglobine provenant de l'hémolyse intravasculaire [4].

Une forme relativement fréquente d'hémoglobinurie aiguë souvent déclenchée par une exposition au froid, souvent aussi associée à la syphilis était connue sous le nom d'hémoglobinurie a frigore. Le mérite de Strübing a été de différencier l'hémoglobinurie paroxystique nocturne de ce syndrome : rétrospectivement, on a réalisé que les deux syndromes sont également dus à une destruction massive des érythrocytes sous la dépendance du complément ; dans la forme d'hémoglobinurie paroxystique par le froid, des globules rouges normaux sont détruits par l'anticorps de Donath-Landsteiner (qui se fixe plus fortement aux globules rouges à basse température), alors que dans l'hémoglobinurie paroxystique nocturne des érythrocytes anormaux présentent une sensibilité intrinsèque au complément même en l'absence d'un anticorps atypique. Ce n'est qu'en 1911 que Hijmans Van Den Bergh implique le complément dans le mécanisme hémolytique de l'hémoglobinurie paroxystique nocturne [3].

Marchiafava et Nazani en 1911, puis Micheli en 1931, établissent le tableau clinique classique de la maladie qui porte leur nom (maladie de Marchiafava-Micheli). Enneking introduit à la même période le terme d'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN) [5].

En 1939, Ham a démontré que la destruction des érythrocytes est due à l'activation du complément; le test Ham dans lequel le sérum humain est acidifié afin d'activer le complément, a ainsi été développé comme un test diagnostique in vitro pour les érythrocytes HPN [6].

En 1960 Auditore et Hartmann ont montré que l'activité de l'acétylcholinestérase dans les érythrocytes HPN est significativement diminuée. Bien que cette découverte a été confirmée par la suite, les patients avec un déficit héréditaire de l'acétylcholinestérase ne souffrent pas d'HPN, ce qui indique que la baisse de l'activité de l'acétylcholinestérase est un effet secondaire [9].

Dès 1963, Dacie fut le premier à émettre l'hypothèse que l'HPN pourrait être une maladie clonale [7]. Lewis et Dacie [10] ont ensuite constaté en 1965 un déficit des phosphatases alcalines des granulocytes des patients atteints d'HPN. Ce déficit a également été confirmé et lié à toutes les présentations cliniques de l'HPN.

Ikezawa en 1976. [11] et Low en 1977 [12] ont constaté par des recherches sur les caractéristiques moléculaire de l'HPN que les phosphatases alcalines sont libérées à partir des tranches de rein du rat avec une phosphatidyl-inositol-phospholipase-C spécifique (PIPLC). Les rapports ont conduit à la découverte d'une nouvelle famille de protéines membranaires désignées par protéines GPI ancrées (GPI-AP).

Peu de temps après la découverte, il a été constaté que l'acétylcholinestérase appartient aussi à la famille de protéines GPI ancrées. Les protéines GPI ancrées provoquant les symptômes cliniques de l'HPN ont

été au début rapportées par Nicholson-Weller en 1982 [13] et Pangburn [14]. Ils ont isolé le CD55 ou DAF (decay accelerating factor) à partir de la membrane érythrocytaire, qui inhibe la voie du complément au niveau de la C3 convertase. Par la suite, Nicholson-Weller et al [15] ont constaté que le CD55 était déficient dans les cellules de sang prélevées sur les patients atteints d'HPN. Ce déficit explique la faiblesse des érythrocytes HPN contre le complément d'attaque membranaire. La découverte par Davitz [16] et Medof [17] en 1986 que le CD55 était une des protéines GPI ancrées a dévoilé le mystère pourquoi l'acétylcholinestérase et les phosphatase alcaline sont déficientes dans les érythrocytes HPN. Ainsi, ces découvertes suggèrent que l'étiologie sous-jacente de l'HPN pourrait être due à une incapacité de synthèse de l'ancre GPI.

L'HPN est aujourd'hui considérée comme une maladie de la cellule souche hématopoïétique, de nature clonale.

Depuis 1980, les progrès de la cytométrie en flux puis, plus récemment, de la biologie moléculaire, ont conduit à une réelle avancée dans la connaissance de la physiopathologie de cette maladie rare [8].

EPIDEMIOLOGIE

1-Incidence

Une étude a été menée par la Société Française d'Hématologie (SFH) dans laquelle 460 cas sont diagnostiqués au cours de 50 ans [1].

C'est une affection rare, encore qu'un nombre non négligeable de 8000 à 10 000 de patients ait été recensé en Europe et en Amérique du Nord [2-1]. Cette pathologie a une incidence de 2 à 6 par million, à peu près semblable à celle de l'anémie aplasique avec laquelle il partage une relation étroite [1].

Le début de la l'HPN est observée allant des mineurs aux personnes âgées, à l'âge moyen de environ 36. Les patients HPN sont principalement des adultes jeunes, et les formes à révélation pédiatriques sont rares (14 % des patients ont moins de 20 ans) [20]. Il n'y a pas de sexe ou de préjugé racial, même s'il est signalé à être plus fréquente dans les pays asiatiques [19].

2-Circonstances de survenue

Certains facteurs étiologiques ont pu être incriminés, comme l'exposition à des produits toxiques pour les cellules médullaires: dérivés organiques (benzène, trichloréthylène, hydrocarbures), insecticides utilisés dans l'agriculture, médicaments (chloramphénicol, noramidopyrine, neuroleptique)...

Cependant dans la plupart des cas la survenue de l'HPN ne peut être reliée à aucune cause [18].

En revanche, le déclenchement d'épisodes hémoglobinuriques au cours de l'évolution de la maladie peut être dû à une situation de stress (effort physique, intervention chirurgicale), à une stimulation du système immunitaire (injection, vaccination, transfusion), ou à la prise de médicaments (sulfamides, aspirine, pénicilline) [21].

La variété pancytopénique de l'HPN, par aplasie ou dysplasie myéloïde peut succéder à l'action d'un produit chimique : médicament, ou un produit utilisé dans l'industrie ou dans l'agriculture, comme dans les aplasies médullaires [22].

PREMIERE PARTIE :

**DE LA PHYSIOPATHOLOGIE AU
DIAGNOSTIC DE L'HPN**

I.PHYSIOPATHOLOGIE

1-Les cellules sanguines dans l'HPN

Rappel sur le système du complément : Le complément est une forme du système immunitaire inné qui joue un rôle important dans la défense de l'hôte contre l'invasion des micro-organismes. Il est composé de plus d'une 30aine de protéines solubles ($\approx 5\%$ des protéines plasmatiques) et membranaires (récepteurs et protéines régulatrices) qui interagissent entre elles et avec certaines membranes biologiques. Le complément peut être activé par la voie classique (essentiellement par le complexe Ag-Ac), la voie des lectines (activée par des germes ayant des groupements mannoses terminaux) ou la voie alternative (activée directement au contact avec certaines surfaces comme les surfaces bactériennes (G^- , G^+) ou les cellules infectées par des virus, des levures ou parasites, et également activée par des polysaccharides, des lipopolysaccharides ou les endotoxines bactériennes) [24].

Les voies d'activation du complément sont rappelées sur la fig.1. Ces voies se rejoignent en une voie effectrice commune conduisant à la formation d'un complexe multimoléculaire appelé complexe lytique ou complexe d'attaque membranaire (Cam C5b-9 ou perforine). L'étape centrale d'activation est la formation de fragment activé de la fraction C3 (C3b) par les C3 convertases des deux voies d'activation. Le Cam entraîne des lésions de la membrane cellulaire qui portent essentiellement sur la couche phospholipidique. Ceci aboutit à une perméabilité accrue de la membrane et à la lyse osmotique colloïde de la cellule envahie par l'eau et les sels extracellulaires. Cette lyse se fait grâce à la fixation sur des éléments cibles

qui peuvent être : érythrocytes, lymphocytes, plaquettes, bactéries, virus, cellules tumorales.

L'activation en cascade de ces différents composés est à l'origine d'activités biologiques essentielles : présentation de l'Ag, réaction inflammatoire, phagocytose, neutralisation des virus, élimination du complexe Ag-Ac, et régulation de la réponse immunitaire [23].

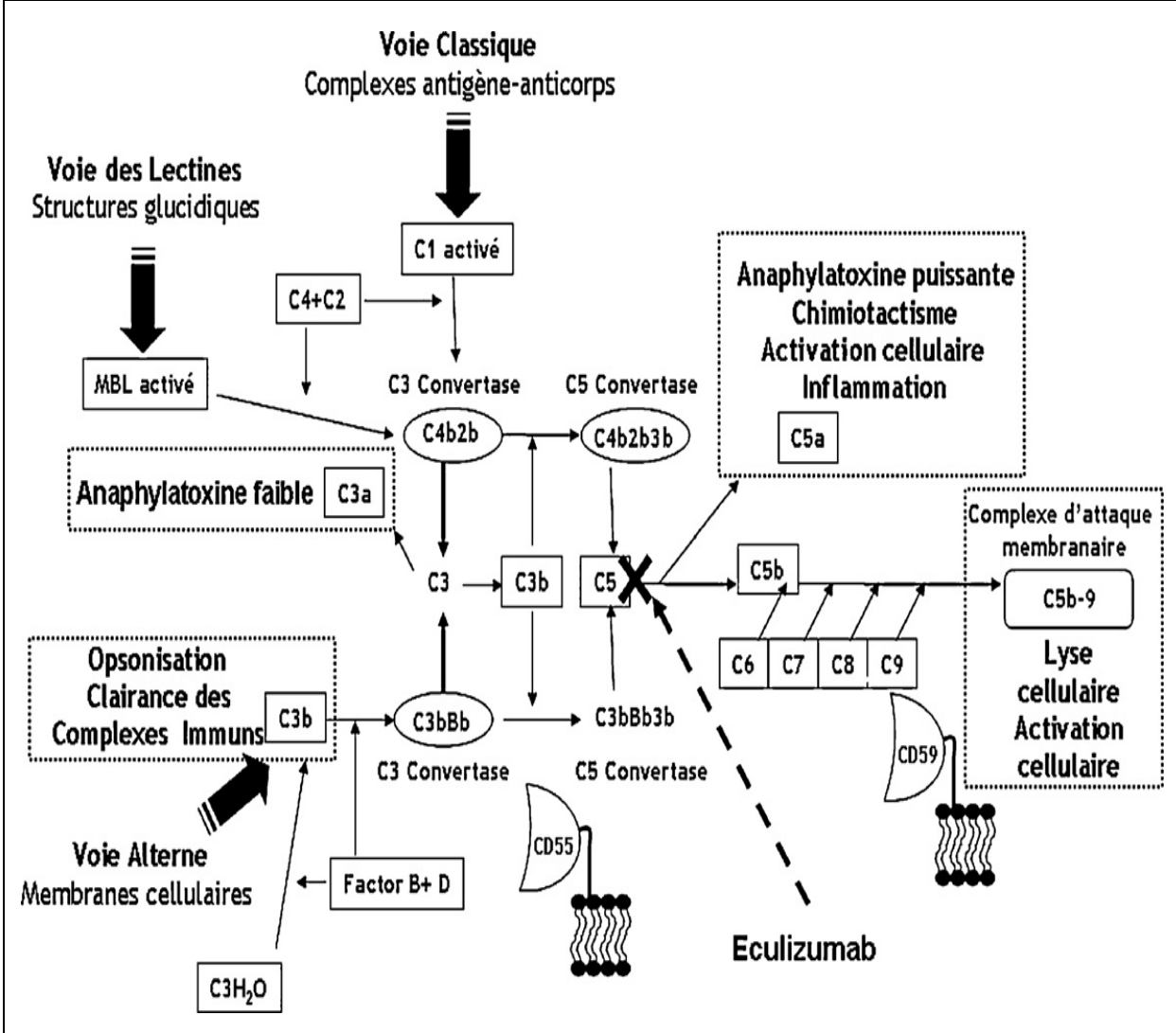


Fig.1. Cascade d'activation du complément et rôle du CD55 et du CD59 [25].

1.1-Sensibilité anormale des cellules à l'action du complément

Dès la première description de la maladie, la sensibilité anormale des érythrocytes à l'action lytique du complément a été considérée comme la caractéristique principale de la maladie. Toutes les protéines GPI ancrées (GPI-AP) sont déficientes sur les cellules souches touchées et leurs progéniteurs. L'anémie hémolytique de Coombs négatif et l'hémoglobinurie résultante de l'hémolyse intravasculaire est la caractéristique clinique de l'HPN classique attribuable à une carence en CD55 et CD59, car les érythrocytes du sang périphérique dérivant du clone mutant sont incapables de restreindre l'activation du complément par la voie alterne à la surface des cellules HPN (fig.2) [26].

Plusieurs dispositifs permettent de protéger les cellules saines autologues contre une activation malencontreuse du système du complément à leur surface membranaire [28].

Chez l'homme, il existe plusieurs protéines régulatrices du complément associées à la membrane cellulaire [29]. On a le CD55 ou DAF (decay accelerating factor), le CD46 ou MCP (membrane cofactor protein), le CD35 ou CR1 (Complement receptor type 1) et le CD59 ou MIRL (membrane inhibitor of reactive lysis) [29]. DAF, MCP, CR1 et CD59 ont été également identifiées dans un certain nombre d'espèces animales dont la souris qui est l'espèce de choix pour le développement des souches mutantes à explorer les fonctions in vivo de ces protéines. Toutefois, il existe plusieurs différences notables entre l'homme et la souris dans la composition et les modèles d'expression des protéines membranaires régulant le complément (fig.3) [29].

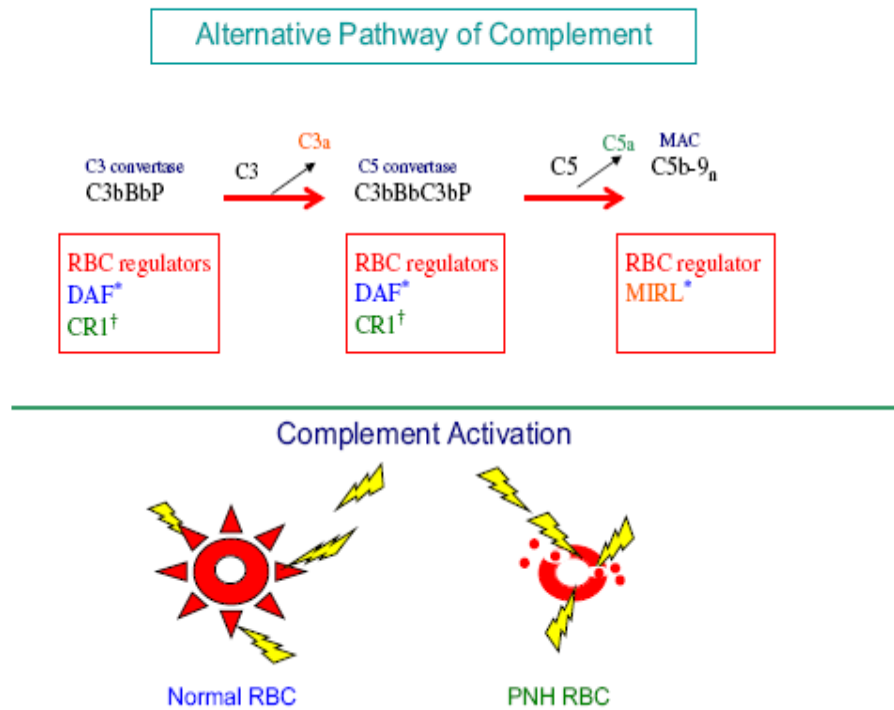


Figure 2. Lyse des érythrocytes HPN par le complément activé.

L'anémie hémolytique de l'HPN est Coombs négatif parce que le processus est médié par la voie alternative du complément indépendamment de l'anticorps. La C3 et C5 convertases amplifient grandement l'activation du complément par le clivage de molécules de substrats multiples. Le CD55 restreint la formation et la stabilité à la fois de la C3 convertase et l'amplification de la C5 convertase, tandis que le CD59 bloque la formation du complexe d'attaque membranaire cytolytique (C5b-9). La protéine transmembranaire CR1 régulatrice du complément est exprimée sur les cellules HPN, mais la densité est trop faible pour inhiber l'activation du complément spontanée lorsque CD55 et CD59 sont absents. Les érythrocytes normaux sont protégés contre la lyse principalement par CD55 et CD59. Le déficit en ces protéines implique la lyse des érythrocytes HPN par le complément.

Le CD55 inhibe l'activation des fractions C3 et C5 du complément, en empêchant la formation de nouvelles convertases et en accélérant la dégradation de C3 et C5 préformés (fig.2). Le MCP régule l'activation de C3 en fonctionnant comme une protéine cofacteur du clivage de C3b [27]. Le CR1 est un inhibiteur efficace du complément, il a à la fois les activités du DAF et MCP. En outre, CR1 est un ligand de C4b et C3b et un grand récepteur d'adhérence immunitaire et joue un rôle dans le traitement et l'élimination des complexes immuns mais sa densité est faible au niveau membranaire (fig.3) [27].

Le CD59 empêche la formation du CAM au niveau des étapes terminales de la cascade d'activation du complément en inhibant la liaison de C9 au complexe C5b-9 (fig.2) [29]. Quand le CD59 est absent sur la surface cellulaire, C5b-9 polymérise environ 16 molécules de C9 en CAM [27]. Le CD59 appartient à la famille de protéines antigène leucocytaire 6 (Ly-6), en raison de son rôle crucial dans la prévention des dommages des cellules du soi par les dépôts inappropriée du CAM, il est largement exprimé, sur presque tous les tissus du corps.

Ces protéines diffèrent dans leur mécanisme d'action et dans la manière avec laquelle elles sont attachées à la surface des cellules (fig.3). DAF et CD59 sont attachés à la surface cellulaire via un ancrage glycosylphosphatidylinositol (GPI) tandis que MCP et CR1 s'attachent à la membrane plasmique par l'intermédiaire de leur extrémité C-terminal des domaines transmembranaire [27]. Structurellement, DAF, MCP et CR1 appartiennent à la RCA (régulateurs d'activation du complément) une famille de gènes contenant un nombre variable de consensus répété à court domaine

(SCR : short consensus repeat domains) [29] .CD59 est une protéine beaucoup plus petite sans séquence ou ressemblance de structure avec la famille RCA [29] (fig. 3).

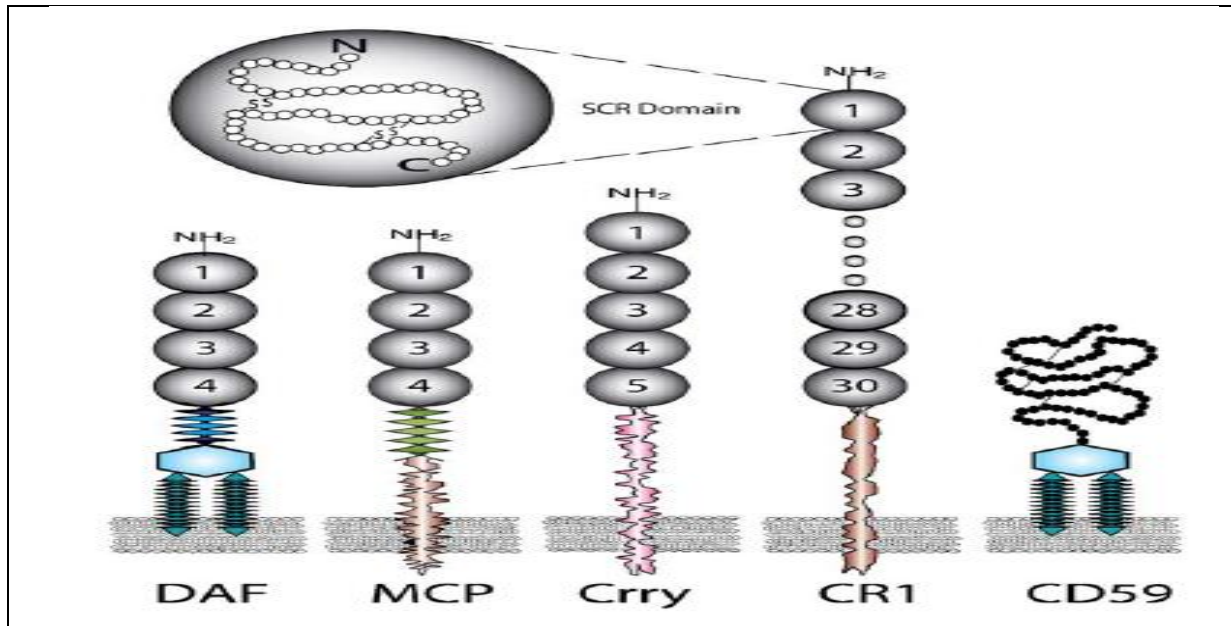


Fig.3. Structures des domaines d'ancrage membranaire du DAF, MCP, CR1, CD59 chez l'homme et du Crry chez la souris.

DAF et MCP contiennent quatre courtes unités répétées (SCR: short consensus repeats). CR1 contient 30 SCR et Crry contient 5 SCR (Crry: complément récepteur 1-connexes de gènes / protéine Y), le Crry est considéré comme un homologue du MCP humain et possède à la fois les activités du MCP et DAF. Chaque domaine SCR se compose d'environ 60 acides aminés avec 4 résidus cystéine qui forment des ponts dissulfures.

Aucun domaine SCR n'est présent dans le CD59, son domaine extracellulaire contient plus de 70 acides aminés avec 5 ponts dissulfures unissant les résidus cystéine. Il perd son activité par la dégradation de ses liaisons dissulfure par des réactifs thiol: les liaisons dissulfures sont essentielles pour maintenir la structure en trois dimensions. DAF et CD59 sont attachés à la membrane cellulaire via une ancre glycosylphosphatidylinositol (GPI) tandis que MCP, CR1 et Crry s'insèrent dans la membrane cellulaire par des domaines transmembranaires.

1.2. Défaut du système d'ancrage des protéines GPI

Comment expliquer le fait que des molécules dont les fonctions sont apparemment aussi éloignées comme par exemple le DAF et la molécule d'adhésion CD58 (LFA3 :lymphocyte function associated antigen) soient manquantes dans l'HPN ?

La réponse c'est que toutes ces molécules présentent un élément structural commun : elles sont attachées à la membrane par une ancre glycosylphosphatidylinositol (GPI) [32]. Dans l'HPN les protéines GPI exprimées physiologiquement sur les cellules sanguines sont normalement synthétisées mais ne sont pas présentes sur les cellules de patients atteints en raison du défaut de synthèse de leur système d'ancrage, l'ancre GPI est une forme de modifications post-traductionnelles de nombreuses protéines de la surface cellulaire communes à tous les phylums des eucaryotes [31-32].

Environ 150 protéines humaines à différentes fonctions sont GPI ancrées tel que les enzymes hydrolytiques (phosphatase alcaline, acétylcholinestérase érythrocytaire, dipeptidase rénale...), les molécules d'adhérence cellulaire (molécule d'adhérence des cellules neuronales 120....), les récepteurs (récepteur des folates, CD14, CD16b...), les protéines régulatrices du complément (CD55 et CD59), les protéines immunologiques importantes (CD24, CD48, CD52...), et d'autres protéines (protéine prion et glypicans) [30] (Tableau 1).

Les principales protéines GPI chez l'homme.

Protéines du complément	<i>DAF</i> (CD55) <i>MIRL</i> (CD59) Protéine porteuse du C8 (HRF)
Enzymes	Acétylcholinestérase (érythrocyte) Phosphatase alcaline (leucocyte) 5'-exonucléotidase (lymphocyte) CD73
Récepteurs	Fc γ -type III (CD16a) Récepteur à l'urokinase (UPAR), CD87 Récepteur aux folates Récepteur protéine porteuse des endotoxines (CD14) Récepteurs du système immunitaire LFA-3 (CD58) CD48 (lymphocytes) CDw52 (campath-1)
Autres protéines	CD24 CD66c et 66e CD67 CDw108 CDw109 p-50-80 (granuleux)

GPI : glycosylphosphatidylinositol.

Tableau 1. Principales protéines GPI chez l'homme [25].

2. Aspects moléculaires de l'HPN

2.1. Structure du système d'ancrage GPI

La structure typique de l'ancrage GPI de la membrane érythrocytaire de l'homme est indiquée dans la **Fig.4**. L'ancrage GPI se compose d'un phosphatidylinositol (PI), une glucosamine, trois mannoses, un éthanolamine phosphate et une chaîne polypeptidique. Au niveau du phosphatidylinositol la position C-1 du glycérol se lie à une chaîne alkyle. La position C-2 du glycérol se lie à un acide gras hautement insaturé tels que l'acide arachidonique. Un acide plus gras, l'acide palmitique en général, est lié à la position C-2 de l'inositol [32].

Cette structure rend l'ancrage GPI très résistant contre l'enzyme catalytique le phosphatidylinositol phospholipase C (PIPLC). La structure de base des oligosaccharides de l'ancrage GPI est **EtNP-6Man α 1-2Man α 1-6Man α 1-4GlcN α 1-6Inositol-phospholipides** (EtNP est le phosphate éthanolamine; Man est le mannose et le GlcN est la glucosamine). Les liaisons glycosidiques sont toutes des liaisons α . Le groupe hydroxyle C-2 du résidu mannose M1 qui est lié au glucosamine est généralement occupé par une phosphoryl-éthanolamine. Le C terminal de la chaîne polypeptidique est attachée par des liaisons amides au reste de la structure [33].

Les protéines GPI ancrées (GPI AP) des mammifères sont situées à l'extérieure de la bicouche lipidique de la membrane plasmique. La liaison des molécules de GPI se fait par des liaisons hydrophobes avec la bicouche lipidique par trois chaînes alkyle: une chaîne est liée par l'inositol et deux chaînes sont tenues par le glycérol (voire figure 5). Le palmitate lié au groupe

hydroxyle en C-2 de l'inositol par liaison acyle empêche la libre rotation du groupement inositol.

Le groupe amino libre de glucosamine fait une liaison ionique avec le phosphate de PI, ce qui suggère une conformation rigide de la molécule GPI. Les molécules GPI n'ayant pas de polypeptide ont été observées dans la membrane plasmique [34].

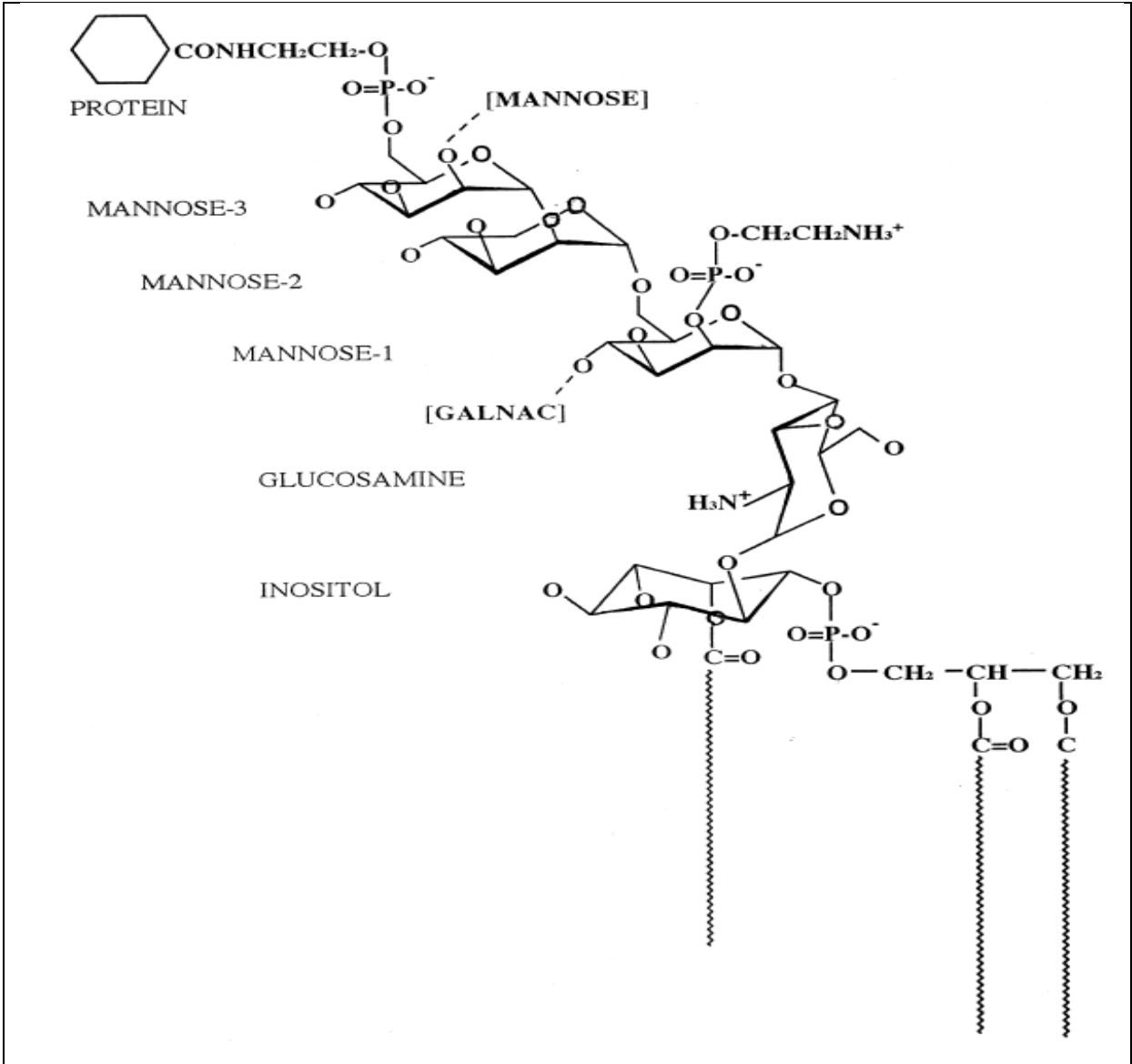


Fig.4. Structure typique de l'ancree GPI de la membrane erythrocytaire de l'homme.

phosphatidylinositol (GlcNAc-PI) [31] (voir la fig.6). La production de GlcNAc-PI, est médiée par GPI-GlcNAc transférase (GPI-GnT) qui est un complexe glycosyltransférase, composé de six principales sous unités (PIG-A, PIG-C, PIG-H, PIG-P , PIG-Q et le PIG-Y [33]), avec une sous unité supplémentaire DPM2 [36] qui améliore l'activité de GPI-GnT au triple [36], PIG-C, PIG-H, PIG-P, PIG-Q et le PIG-Y sont toutes essentielles pour l'activité du complexe glycosyltransférase .PIGA est la sous unité catalytique [37] (voir tableau 2).

Etape 2: GlcNAc-PI est désacétylé pour générer GlcN-PI du côté cytoplasmique, la désacétylation est médiée par PIG-L une protéine membranaire du réticulum endoplasmique [38].

Etape 3 : Une chaîne acyl (généralement palmitoyl) est ajoutée au groupe hydroxyle en C-2 de l'inositol par l'acyl-CoA pour former GlcN-(acyl)-PI, parce que cette fixation est nécessaire pour l'ajout des résidus mannose. Le transfert de la chaîne acyl à l'inositol, est médiée par la protéine multi transmembranaire PIG-W ayant une activité acyltransférase [39].

Etape 4: GlcN-(acyl) PI est retournée à travers la membrane du RE dans le côté luminale. Il y a encore un argument à savoir si GlcN-(acyl) PI ou GlcN-PI qui est retournée dans le côté luminale [40, 41]. Une enzyme flipase putative qui sert d'intermédiaire, pivotant le GlcN-PI dans le côté luminale, n'a pas été identifiés [31].

Etapas 5 et 6: Man-1 et Man-2 sont successivement transférés à GlcN-(acyl) PI à partir de dolichol-phosphate-mannose (Dol-P-Man ou DPM : donneur de mannose) pour générer Man-Man-GlcN-(acyl) PI [42].

Etape 5 : le transfert du premier mannose Man-1 est médié par l' α 1-4 mannosyltransferase I (GPI-MT I) , composé de PIG-M et PIG-X [44, 45]. PIG-M est la sous unité catalytique [43] [44]. PIG-X une protéine transmembranaire du RE qui est associé à PIG-M et nécessaire à l'expression stable de PIG-M [45].

Etape 6 : le transfert du Man-2 exige PIG-V. Bien que son activité catalytique n'a pas été démontrée, PIG-V est l' α 1-6 mannosyltransferase II (GPI-MT II) [42].

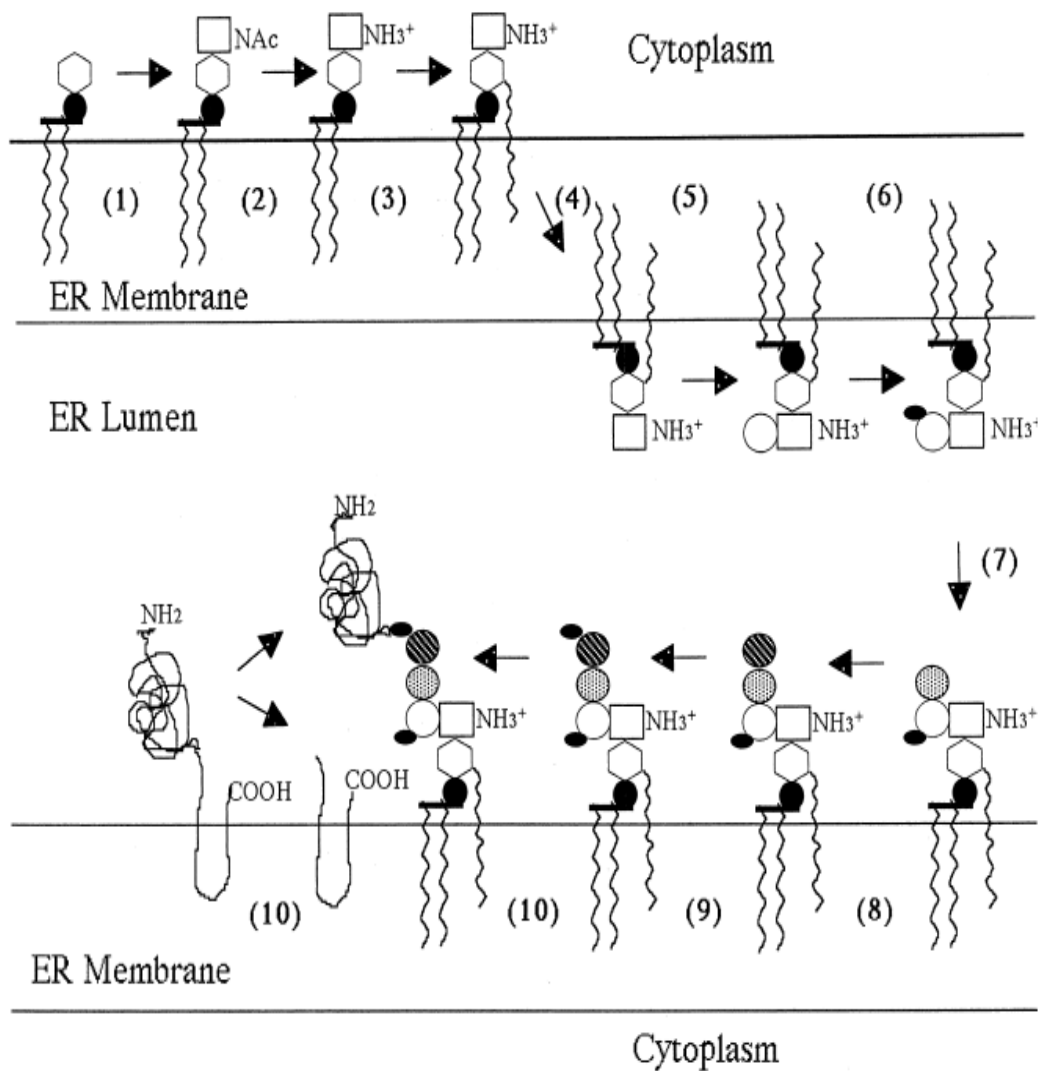


Figure.6. Biosynthèse des protéines GPI ancrées. hexagone, rectangle et cercle indiquent inositol, glucosamine et mannose respectivement.

Etapes de la biosynthèse: 1 ajout du GlcNAc ; 2 désacétylation ; 3 palmitoylation. 4 flipage ; 5 ajout du mannose M1 ; 6 ajout du EtNP au M1 ; 7 ajout du M2 ; 8 ajout du M3 ; 9 ajout du EtN-P au M 3 ; 10 clivage du peptide signal et attachement à la chaîne polypeptidique.

Etape 7: le phosphate éthanolamine (EtNP) est ajoutée à la position 2 du Man-1 à partir du phosphatidyl éthanolamine générant Man-(EtNP)Man-GlcN-(acyl) PI , le transfert de l'EtNP au Man-1 exige PIG-N qui est le GPI-éthanolamine-phosphate-transféraseI (GPI-ET I) [46].

Etape 8: Man-3 est transféré de Dol-P-Man, L'enzyme clé est l' α 1-2 mannosyl transférase III (GPI-MTIII) , PIG-B est une mannosyl transférase putative et fonctionne pour l'ajout de troisième mannose M3 [47].

Etape 9: le deuxième EtNP est transféré sur le groupe hydroxyle en C-6 de M3 à partir du phosphatidyl-ethanolamine générant une forme mûr du précurseur de l'ancre GPI, EtNPMan-Man-(EtNP) Man-GlcN-(acyl) PI . L'EtNP est transférée par GPI-ETIII qui est un complexe de PIG-O [48] et PIG-F [49]. PIG-O est la sous unité catalytique [48]. PIG-F se lie et stabilise PIG-O [48].

Etape 10:Le troisième EtNP est ajouté au Man-2 à partir du phosphatidyl éthanolamine pour générer une autre forme de précurseur GPI mature. L'addition d'EtNP au Man-2 est médiée par l'PIG-ETII composé de PIG-G et PIG-F [50] PIG-G est stabilisé par PIG-F [50].

Après l'étape 8, le quatrième Man (Man-4) peut être transféré à partir de Dol-P-Man pour générer un intermédiaire de quatre mannose, qui est ensuite converti par EtNP par addition de Man-3 (étape 9') dans la troisième forme mûr de précurseurs de l'ancre GPI [51]. Le transfert de Man-4 est médié par PIG-Z (également appelé SMP3) qui est une mannosyltransférase α 1-2 [51].

Attachement post traductionnel des ancres GPI aux précurseurs polypeptidiques

Les précurseurs polypeptidiques des protéines GPI ancrées ont deux séquences signal. La séquence signal de la partie amino terminal est nécessaire pour le transport des précurseurs du côté cytoplasmique au côté luminale de la membrane du RE. D'autre part, la séquence signal de la partie C-terminal est nécessaire pour relier le précurseur à l'ancre GPI [55].

Lorsque la protéine naissante est transportée dans le lumen du RE via le mécanisme de translocation, le GPI Transamidase (GPI-TA) reconnaît le peptide signal C-terminal GPI et le clive entre le site ω et $\omega + 1$ et le couple par la suite à l'éthanolamine de l'ancre GPI. Le GPI-TA est une enzyme de plusieurs sous unités membranaire. Le GPI-TA des mammifères se compose de cinq sous unités : protéines PIG-K, GAA1 [52], PIG-S, PIG-T [53] et le PIG-U [54]. PIG-K/GPI8 est la sous unité catalytique [55]. Les quatre autres sous unités sont également essentielles ou presque indispensables pour la fixation de GPI, toutefois leurs fonctions ne sont pas claires.

Les peptides signal GPI de différents précurseurs GPI-AP ont plusieurs caractéristiques communes, à savoir:

- le C-terminal d'une protéine GPI ancrée mature est appelé site ω . Les sites ω des acides aminés liés au GPI par une liaison amide sont ceux qui ont une petite chaîne latérale, à savoir Gly, Ala, Ser, Asn, Glu, Cys, alors que les grands sont observés au site $\omega+1$

- les sites $\omega+2$ des acides aminés sont également ceux qui ont des petites chaînes latérales, telles que Gly, Ala, Ser, et un espace d'une séquence hydrophile avec six résidus ou plus à partir du site $\omega+3$
- une séquence hydrophobe C-terminal assez longue pour franchir la membrane du RE.
- les peptides signal GPI d'attachement contiennent toutes les informations nécessaires et suffisantes pour l'ancre GPI, car ils peuvent convertir les protéines non GPI ancrées en protéines GPI ancrées lorsqu'ils sont fixées à leur extrémité C-terminale.

Localisation Cellulaire : Les protéines GPI ancrées se trouvent à la surface cellulaire sur la membrane plasmique et au côté lumenale de la membrane du RE et fonctionnent principalement à la surface cellulaire. Elles sont liées à la bicouche lipidique via les alkyles de l'ancre GPI par la force d'hydrophobie. En raison de chaînes des acides gras saturés dans la partie lipidique de GPI, ces protéines subissent des processus de remodelage lipidique pour pouvoir être ensuite associées avec des domaines membranaires spéciaux qui sont des structures spécifiques à la surface cellulaire, appelées microdomaines membranaires ou radeaux membranaires ou domaines de membrane résistants au détergent (DRM) [56].

Les Radeaux sont des domaines moins de 70 nm de diamètre et sont riches en cholestérol et en sphingolipides et préférentiellement situés au niveau du feuillet de la membrane plasmique. Ces lipides leur donnent une haute résistance contre la solubilisation avec des détergents non ioniques [33].

GENES INVOLVED IN GPI BIOSYNTHESIS AND REMODELING IN MAMMALIAN CELLS

Step	Enzyme	Donor Substrate	Gene	Function
1	GPI-GlcNAc transferase (GPI-GnT)	UDP-GlcNAc	<i>PIG-A</i> <i>PIG-C</i> <i>PIG-H</i> <i>PIG-P</i> <i>PIG-Q</i> <i>PIG-Y</i> <i>DPM2</i>	Catalytic
2	GlcNAc-PI de-N-acetylase		<i>PIG-L</i>	Catalytic
3	Flippase		Not identified	
4	Inositol acyltransferase	Palmitoyl-CoA	<i>PIG-W</i>	Catalytic
5	α 1-4mannosyltransferase I (GPI-MT I)	Dol-P-Man	<i>PIG-M</i>	Catalytic
6	α 1-6mannosyltransferase II (GPI-MT II)	Dol-P-Man	<i>PIG-X</i> <i>PIG-V</i>	Stabilization Catalytic
7	EtNP transferase I (GPI-ET I)	PE	<i>PIG-N</i>	Catalytic
8	α 1-2mannosyltransferase III (GPI-MT III)	Dol-P-Man	<i>PIG-B</i>	Catalytic
M4	α 1-2mannosyltransferase IV (GPI-MT IV)	Dol-P-Man	<i>PIG-Z</i> (<i>SMP3</i>)	Catalytic
9	EtNP transferase III (GPI-ET III)	PE	<i>PIG-O</i>	Catalytic
10	EtNP transferase II (GPI ET II)	PE	<i>PIG-F</i> <i>PIG-G</i> (<i>GPI7</i>)	Stabilization Catalytic
TA	GPI transamidase (GPI-TA)		<i>PIG-F</i> <i>PIG-K</i> <i>GAA1</i> <i>PIG-S</i> <i>PIG-T</i> <i>PIG-U</i>	Stabilization Catalytic
P1	Inositol deacylase		<i>PGAP1</i>	Catalytic
P2	GPI-AP phospholipase A2		<i>PGAP3</i>	Catalytic
P3	Lyso-GPI acyltransferase	Stearyl-CoA	<i>PGAP2</i>	Noncatalytic

Tableau 2: gènes impliqués dans la biosynthèse et le remodelage du GPI au niveau des cellules des mammifères [33].

2.3. Le gène PIG-A

Les mutations du gène PIG-A ont été observées chez tous les patients examinés atteints de l'HPN. L'HPN se pose à cause d'une mutation somatique du gène PIG-A dans les cellules souches hématopoïétique.

L'utilisation d'une technique puissante, appelée technique de fusion cellulaire et d'hybridation somatique ou test de complémentation a permis de spéculer combien de gènes sont impliqués dans la biosynthèse de l'ancre GPI. Plus de dix classes ont été identifiées jusqu'ici.

Cette technique consiste en la fusion de deux clones de cellules déficientes, si les cellules fusionnées récupèrent la capacité de synthétiser l'ancre GPI, les clones d'origine sont défectueux dans différents gènes, de sorte que les cellules fusionnées récupèrent un jeu complet des gènes nécessaires à la biosynthèse de l'ancre GPI. Neuf classes de complémentation ont été identifiées et caractérisées (notées de A à I) correspondant donc à neuf gènes putatifs (PIG-A, PIG-B, PIG-C, PIG-D, PIG-E, PIG-F, PIG-G, PIG-H, PIG-I) qui interviennent dans la synthèse de l'ancre GPI.

Trois classes de complémentation (A, C et H) sont incapables de synthétiser le premier métabolite le glucosamine N-acétyl Phosphatidylinositol (GlcNac-PI). La synthèse du GlcNac-PI est, selon la classification en groupe de complémentation, susceptible de faire intervenir trois gènes: les gènes PIG-A, PIG-C et PIG-H [25].

Pourquoi le gène PIG-A à lui seul est responsable de la maladie alors que plusieurs types de protéines sont nécessaires à la synthèse de la molécule de l'ancre GPI ?

Une réponse raisonnable est donnée : c'est que seulement le gène PIG-A qui est localisé sur le chromosome X au niveau du bras court (X p 22.1) alors que tous les autres gènes nécessaires à la synthèse de l'ancre GPI se localisent sur des chromosomes autosomiques [26]. Comme les hommes n'ont qu'un seul chromosome X, l'inactivation d'un gène situé sur le chromosome X provoque une perte complète de produit du gène. Chez les femmes qui ont une paire de chromosomes X, le chromosome X dans une cellule somatique peut être inactivé par lyonisation (inactivation somatique aléatoire), le produit du gène sur le chromosome X est produit à partir d'un seul gène, même chez les femmes. Ainsi, la susceptibilité à des mutations somatiques sur le chromosome X est la même entre les hommes et femmes. La localisation du gène PIG-A sur le chromosome X rend donc bien compte de l'expression phénotypique d'une mutation récessive puisque, tant chez la femme que chez l'homme un seul allèle est exprimé.

L'ADN chromosomique contient 4568 paires de bases avec un cadre de lecture ouvert codant pour une protéine de 484 aminoacides. Le gène PIG-A comporte 6 exons répartis sur 17 Kb, qui peuvent tous être mutés (voir figure.7). Le premier exon est non transcrit, le deuxième contient plusieurs régions codantes, on a également des séquences régulières avec 4 domaines CAAT, 2 séquences AP2, et une séquence CRE.

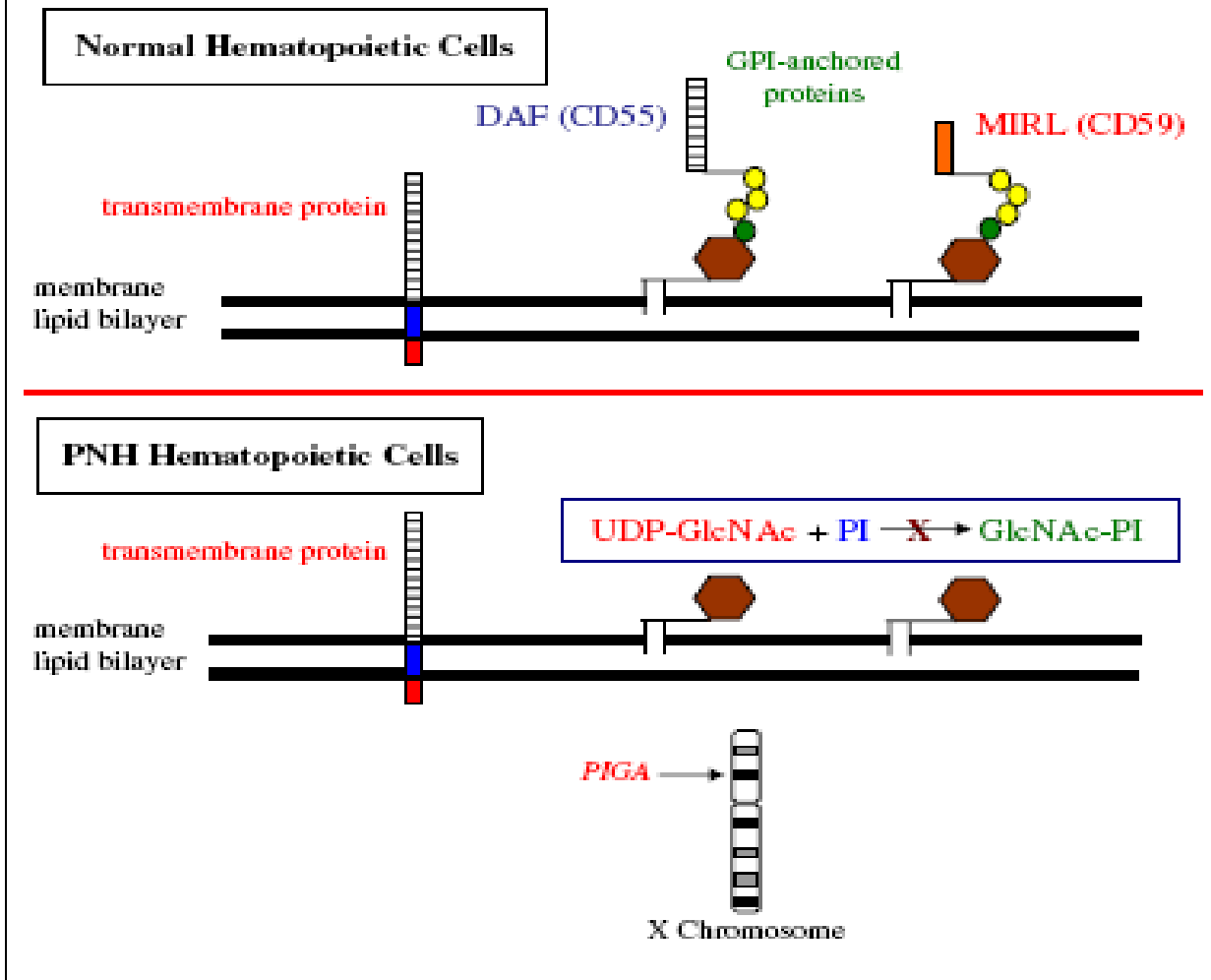


Figure.7. Bases moléculaires et génétiques de l'HPN.

Les cellules souches hématopoïétiques normales expriment à la fois les protéines transmembranaires et les protéines GPI ancrées y compris les deux protéines régulatrices du complément, CD55 et CD59. Les cellules HPN expriment normalement les protéines transmembranaires, mais les protéines GPI ancrées ne sont pas exprimées en raison de la mutation du gène PIGA. Le produit du gène Piga est une glycosyltransférase qui est essentielle pour la première étape de synthèse de la fraction d'ancrage GPI (transfert du sucre nucléotidique (UDP-GlcNAc) au phosphatidylinositol. Le gène Piga est situé sur le bras court du chromosome X (Xp22.1).

Les mutations décelées à ce jour se situent sur l'ensemble du gène et prédominent dans l'exon 2, mais sont non homogènes, non répétitives, ce qui explique l'impossibilité d'utiliser un test moléculaire pour affirmer le diagnostic en pratique clinique pour l'HPN [26].

Les mutations HPN ne sont pas constitutionnelles mais acquises pendant le développement somatique. Près de 200 différentes mutations somatiques Piga ont été catalogués chez les patients atteints d'HPN. La majorité des mutations sont uniques. Elles impliquent des petites insertions, des délétions ou des délétions-insertions décalant la phase de lecture et par conséquent, elles font apparaître un codon stop, et donc une terminaison prématurée de la chaîne polypeptidique, aboutissant à une protéine tronquée. Celle-ci peut être inactive, instable ou les deux à la fois. Il se peut aussi que la stabilité de l'ARN messager de PIG-A soit affectée. Des substitutions d'un seul nucléotide sont fréquentes également : elles peuvent introduire soit un codon stop (mutations non-sens) soit le changement d'un seul acide aminé (mutations faux sens) [58].

En termes fonctionnel, les mutations non-sens produisent un phénotype nul : protéines complètement inactives, donnant ainsi le phénotype HPN type III [57]. Les mutation faux-sens peuvent aussi occasionner un phénotype nul, soit parce qu'elles ont modifié le(s) site(s) actif(s), soit parce qu'elles donnent lieu à une instabilité majeure .Mais la majorité des mutations faux sens trouvées dans l'hémoglobinurie paroxystique nocturne ne sont cause que d'une perte partielle de l'activité PIG-A, ne faisant que réduire les protéines liées au GPI ; donnant ainsi le phénotype HPN type II [57].

2.3.1. Mosaïcisme phénotypique et génotypique de l'HPN

Le sang périphérique des patients atteints d'HPN est une mosaïque des cellules normales et mutantes (fig.8). Le mosaïcisme avait été élucidé sur la base de la lyse incomplète des érythrocytes au test de HAM. Dacie et Rosse ont démontré le phénomène sans équivoque en 1966 en utilisant un test hémolytique quantitatif. Leurs études ont suggéré des populations distinctes d'érythrocytes du sang périphérique avec un spectre hétérogène de sensibilité au complément [59]. Rosse a défini le mosaïcisme phénotypique de l'HPN en montrant trois populations discrètes d'érythrocytes. Les érythrocytes qui sont hautement sensibles à la lyse ont été appelés HPN III, ceux avec une sensibilité intermédiaire ont été appelés HPN II, et ceux avec une sensibilité normale ont été appelés HPN I. Les érythrocytes HPN III sont totalement déficients en DAF et Mirl, alors que les cellules HPN II sont partiellement déficientes (ayant environ 10% de la densité normale de chaque protéine). Les cellules HPN I ont une expression normale de protéines GPI ancrées (fig.8). Par conséquent, la variabilité de sensibilité au complément est expliquée par des différences quantitatives dans l'expression de DAF et Mirl [26].

Les cellules HPN sont plus définitivement classées par cytométrie en flux en utilisant des anticorps monoclonaux anti-CD59. Tous les patients HPN ont plus d'une population des érythrocytes HPN et le pourcentage de cellules HPN I, HPN II et HPN III variait considérablement entre les patients et même chez le même patient le rapport change au cours du temps. Plus de la moitié des patients atteints d'HPN ont les cellules HPN I et HPN III sans cellules HPN II. Même quand les malades ont des cellules HPN II, le taux de cellules HPN II est généralement faible [26].

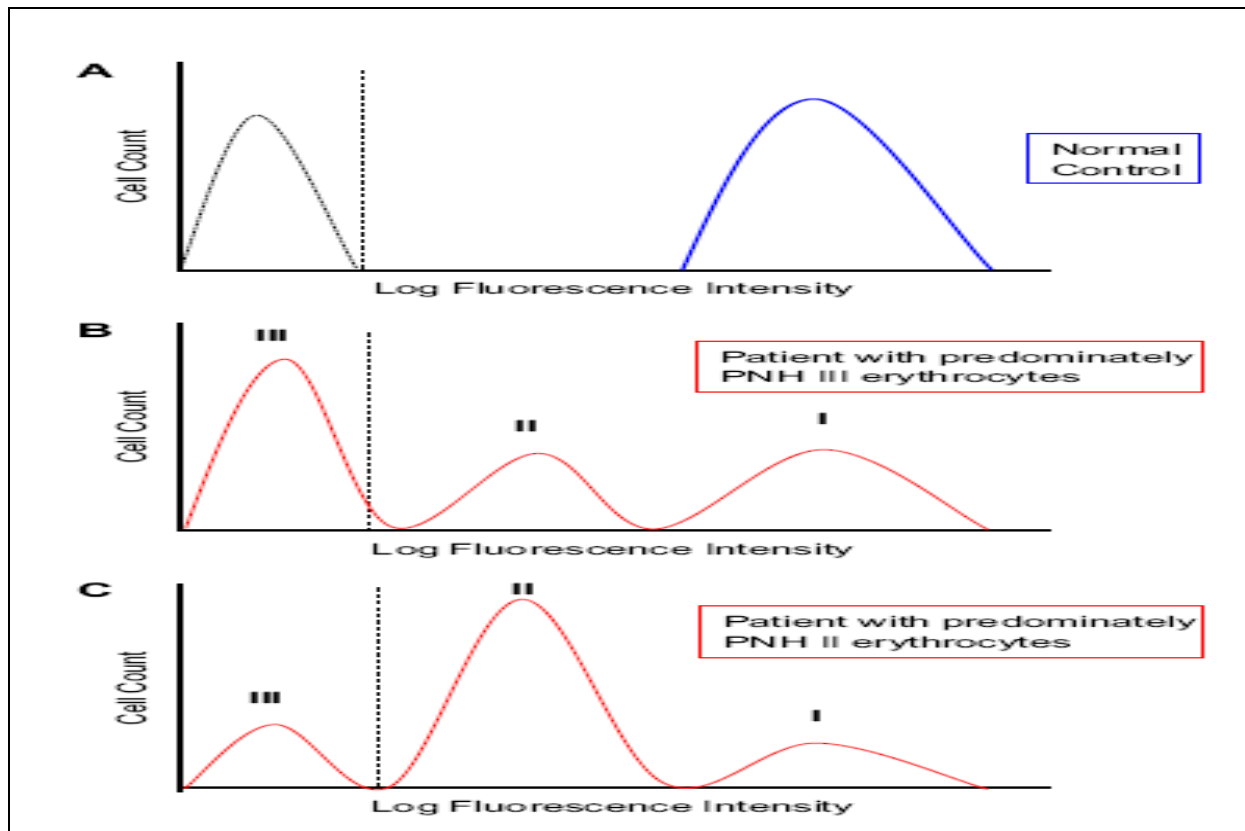


Figure 8. Mosaïcisme phénotypique de l'HPN. Histogrammes à la cytométrie de flux. (A) des hématies normales colorées par FITC-labeled anti-CD59 (ligne bleue), l'intensité de fluorescence est indiquée sur une échelle logarithmique. La ligne pointillée représente la coloration avec un marquage de contrôle d'isotypie pertinent, et la ligne verticale en pointillé indique la limite inférieure de la coloration positive. Les érythrocytes normaux ont une coloration brillante uniforme bleue. (B) Les cellules avec une intensité de coloration normale sont appelées HPN I, celles dont la carence complète de GPI-AP sont appelées HPN III. Les cellules avec déficit partiel sont appelées HPN II, ces dernières expriment environ 10% de la densité normale des GPI-AP. (C) Le type et la proportion de érythrocytes GPI-AP déficients varie considérablement entre les patients atteints d'HPN [26].

Le mosaïcisme phénotypique est une conséquence de mosaïcisme génotypique. Quatre clones mutants Piga discrets ont été identifiés chez un seul patient avec l'HPN. Les cellules au phénotype HPN II sont dérivées à partir d'un clone de cellules souches avec une mutation faux-sens du gène Piga, tandis que les cellules HPN III proviennent de trois clones distincts ayant chacun une mutation différente prévue pour produire un phénotype nul (fig. 9)[58]. Environ 75% des érythrocytes du patient proviennent d'un clone unique. Plusieurs facteurs indépendants de la mutation Piga déterminent l'expansion et la dominance clonale. Chez de nombreux patients atteints d'HPN classique le schéma de l'expression GPI-AP au niveau du sang périphérique reste stable plusieurs années [60,61].

Ensembles, ces données suggèrent que l'HPN classique est une myélopathie clonale indépendante, mais bénigne, avec les caractéristiques suivantes:

- Elle est l'expansion limitée des clones mutants Piga: le sang périphérique de la plupart des patients atteints d'HPN classique est relativement stable avec une mosaïque de cellules normales et anormales.
- Les cellules mutantes Piga respectent les limites des tissus: pas d'invasion observée de l'HPN vers les organes non hématopoïétiques. Les cellules répondent de façon appropriée aux signaux qui régissent normalement l'hématopoïèse: les clones mutants ne fonctionnent de façon autonome.
- La transformation en leucémie aiguë se produit rarement [26].

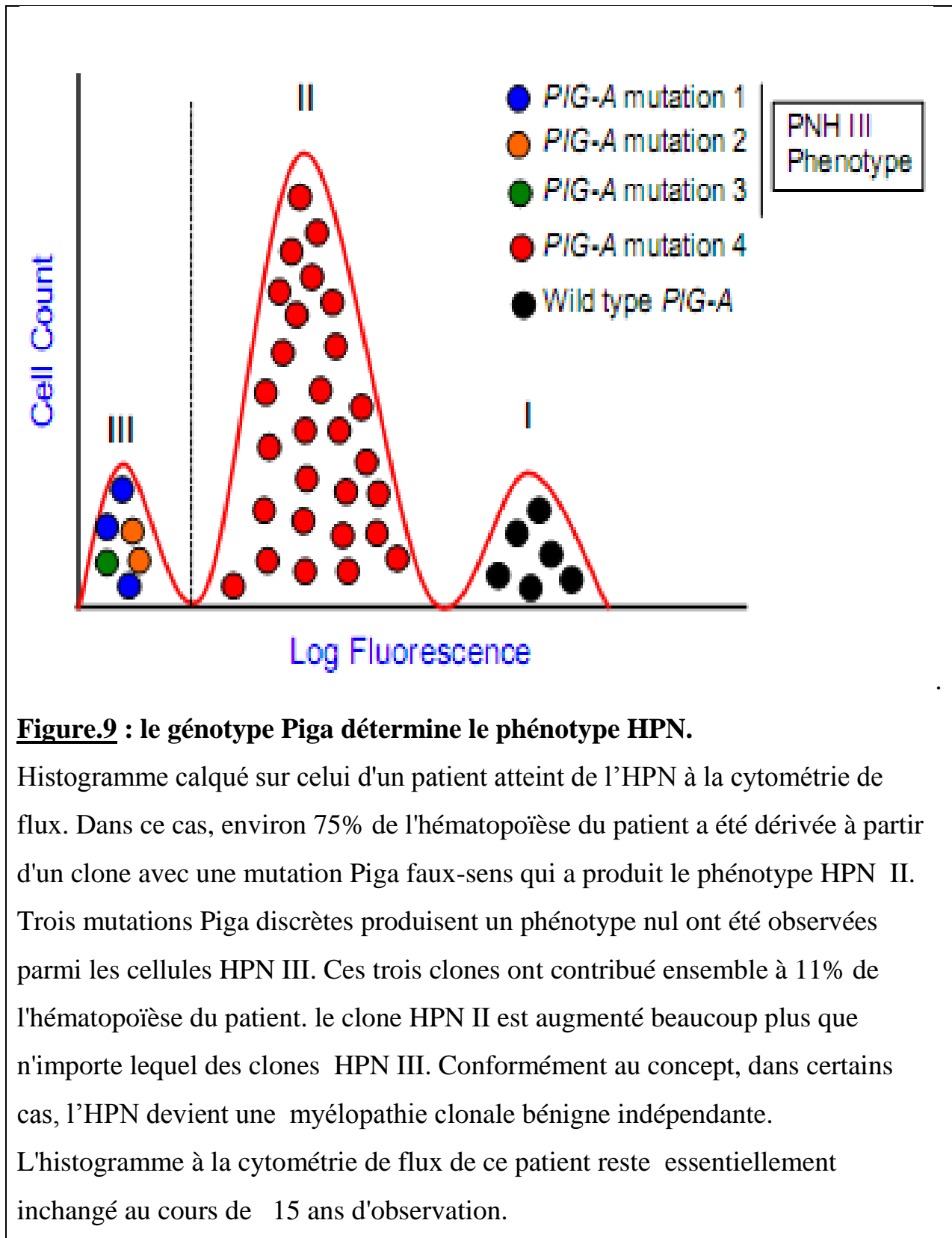


Figure.9 : le génotype Piga détermine le phénotype HPN.

Histogramme calqué sur celui d'un patient atteint de l'HPN à la cytométrie de flux. Dans ce cas, environ 75% de l'hématopoïèse du patient a été dérivée à partir d'un clone avec une mutation Piga faux-sens qui a produit le phénotype HPN II. Trois mutations Piga discrètes produisent un phénotype nul ont été observées parmi les cellules HPN III. Ces trois clones ont contribué ensemble à 11% de l'hématopoïèse du patient. le clone HPN II est augmenté beaucoup plus que n'importe lequel des clones HPN III. Conformément au concept, dans certains cas, l'HPN devient une myélopathie clonale bénigne indépendante. L'histogramme à la cytométrie de flux de ce patient reste essentiellement inchangé au cours de 15 ans d'observation.

2.3.2. Sélection et expansion clonales

En utilisant la cytométrie de flux à haute sensibilité, qui a la capacité de détecter un minimum de 0,003% de granulocytes ou érythrocytes GPI-AP déficients du sang périphérique, on a démontré que 50 à 60% des patients atteints d'anémie aplasique ont des cellules HPN au moment du diagnostic [66-67], mais seulement 10 à 15% de ces patients traités par les immunosuppresseurs développent des preuves cliniques de l'HPN. Environ 20% des patients atteints d'un sous type d'anémie réfractaire au syndrome myélodysplasique (SMD) ont également une HPN subclinique (fig.10). Ces observations suggèrent qu'une composante du processus physiopathologique qui soustend la plupart des cas d'anémie aplasique applique une pression de sélection vers la moelle osseuse qui favorise le prolongement du gène Piga mutant [70]. Cette pression de sélection est suggérée par la forte probabilité de réponse à un traitement immunosuppresseur (globuline antithymocyte, cyclosporine...) chez les patients présentant une anémie aplasique ou une anémie réfractaire au SMD qui ont une HPN subclinique [66, 67,68].

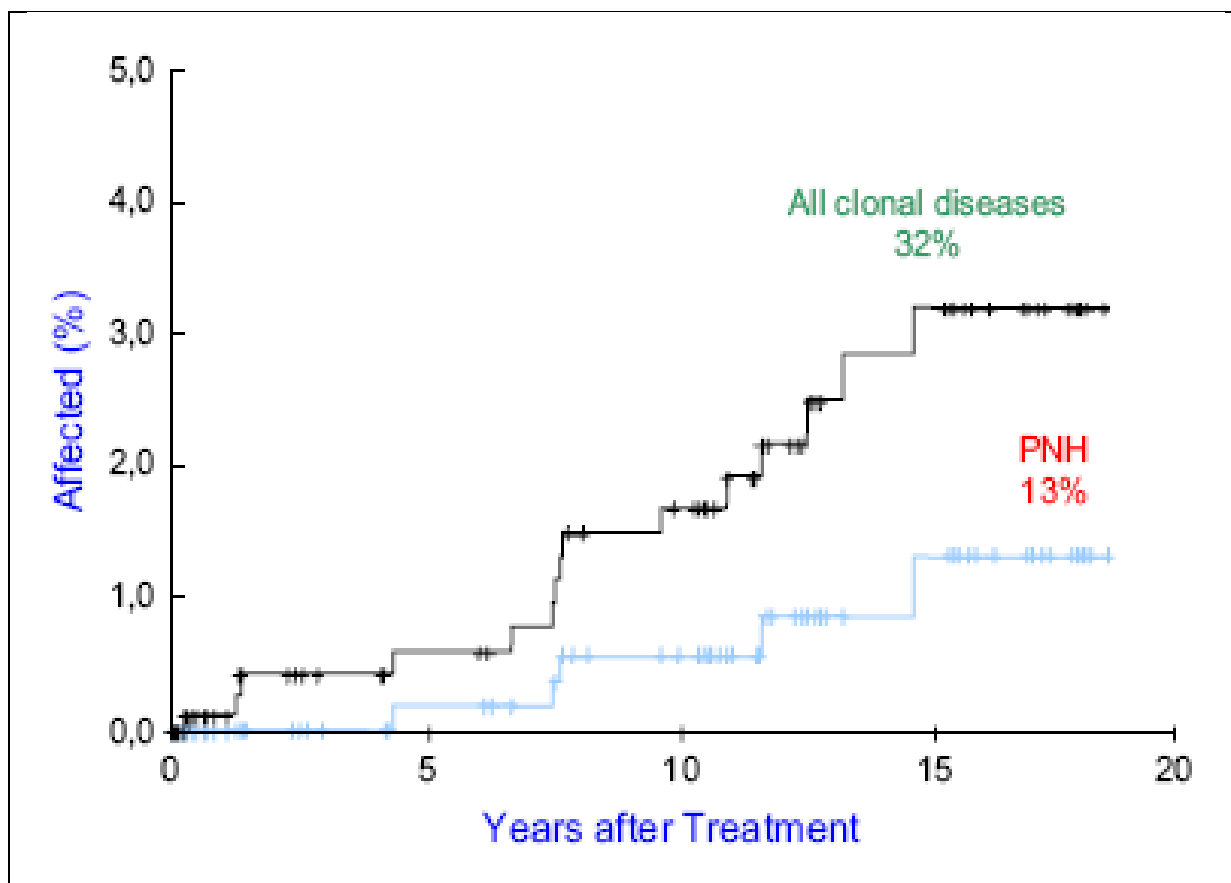


Figure.10 : Développement d’HPN chez les patients atteints d’anémie aplasique traités avec des immunosuppresseurs.

84 patients atteints d’anémie aplasique traités par des immunosuppresseurs ont été suivis dans le cadre d’une étude multicentrique allemande. S’ils développent des signes cliniques et des symptômes de l’HPN, ils sont présélectionnés pour la maladie. Tous les patients avaient un test Ham positif. La désignation des maladies clonales comprend l’HPN et d’autres maladies hématologiques (SMD, la leucémie aiguë ...) et les procédés clonaux non hématologiques (par exemple les cancers épithéliaux). L’HPN clinique est une complication tardive de l’anémie aplasique traitée par immunosuppression [71].

Combinées, ces observations indiquent que l'HPN se développe en deux étapes.

Étape 1: c'est la **sélection clonale**. Ce processus est à **médiation immunitaire** et **directement phénotype dépendant**, toutes les cellules souches mutantes Piga qui sont présentes au moment de l'application de la pression de sélection auront une croissance et un avantage de survie et seront donc les bénéficiaires du processus de sélection [69]. Les cellules HPN II sont détectées chez un nombre relativement grand de patients, ce qui indique que même le déficit partiel de GPI-AP est suffisant pour alimenter la croissance et l'avantage de survie (fig.11).

Étape 2: c'est l'**expansion clonale**. Un **second événement génétique** accorde un montant supplémentaire de croissance ou un avantage de survie pour les cellules souches mutantes Piga. Le second événement œuvre additivement ou en synergie avec l'avantage découlant de déficience en GPI-AP donc **indirectement phénotype dépendant** : Les CSH mutantes Piga pourraient obtenir un avantage de survie dans le cadre de lésions à médiation immunitaire si l'antigène cible de l'attaque cellulaire [63] ou humorale est la protéine GPI ancrée. Les GPI-AP jouent un rôle auxiliaire essentiel comme une molécule de costimulation qui rend une attaque immunitaire cellulaire inefficace contre les cellules mutantes Piga [63,64] fonctionnant comme des récepteurs ou de corécepteurs pour les régulateurs de croissance négatif ou inhibiteurs de cytokines [65].

Le fait que certains clones mutants Piga se développent plus que d'autres indiquent que les mécanismes qui sous-tendent l'expansion clonale

sont hétérogènes (dominance clonale fig. 9). Les lymphocytes T cytotoxiques sont les principaux médiateurs de la destruction des cellules souches dans l'anémie aplasique avec des dommages tissulaires, une conséquence de lymphokines sécrétées, en particulier le tumeur necrosis factor (TNF) et l'interféron- γ . Le système ligand Fas-Fas est également activé par les cellules T cytotoxiques et semble avoir un rôle important dans la pathologie des lésions de la moelle osseuse à médiation immunitaire. Une explication est donnée à l'avantage de survie est que les cellules PIG-A déficientes sont résistantes à l'apoptose et donc peuvent survivre dans la moelle osseuse [26].

2.3.3. Origine des clones de cellules souches hématopoïétiques Pigamutants

Hu et ses collègues ont comparé les caractéristiques des cellules CFU (colony forming units) Piga mutantes dérivées des cellules CD34+ de 4 patients atteints d'HPN et 27 bénévoles.

La fréquence de mutation (**Fm**) [62] du gène Piga est de ($14.7 \pm 4.0 \times 10^{-6}$ / division cellulaire) pour les cellules CD34+ de la moelle osseuse et ($57,0 \times 10^{-6}$ / division cellulaire) pour les cellules de CD34+ mobilisées au niveau du sang périphériques. Ces taux sont semblables à ceux déterminés pour les granulocytes du sang périphérique ($20.0-40.0 \times 10^{-6}$) et les lymphocytes [72], mais les valeurs sont plus importantes de deux à trois ordres de grandeur que les estimations du taux de mutations somatiques spontanées chez l'homme (1×10^{-7} à 1×10^{-8} /division cellulaire) [62]. Ensemble, ces résultats suggèrent que la **Fm** intrinsèque de Piga est anormalement élevée.

Les statistiques de Poisson, Hu et al [62] ont estimé que, s'il n'y avait que 10.000 cellules souches hématopoïétiques actives et les **Fm** Piga ont été (60×10^{-6}), les chances d'avoir deux cellules mutantes Piga seraient de 0,08 et pour trois mutantes, la chance était estimée à 0,02.

Par conséquent, le fait que la plupart des patients atteints d'HPN ont de multiples clones mutants Piga, suggère que d'autres facteurs sont impliqués en plus de la **Fm** élevée de Piga.

Le stress est une force puissante d'évolution .Le raccourcissement des télomères dans les cellules hématopoïétiques est observé chez les patients atteints d'anémie aplasique [73]. Comme le gène Piga est sur le chromosome X, un seul allèle silencieux est nécessaire pour que le phénotype se manifeste. Théoriquement, le phénotype HPN pourrait résulter de l'inactivation de n'importe quel gène de plus de 20 gènes impliqués dans la synthèse de l'ancre GPI [73].

En résumé, les facteurs qui semblent contribuer à la génération de multiples clones mutants de cellules souche hématopoïétiques Piga chez les patients atteints d'HPN sont les suivantes:

- 1) le gène Piga est sur le chromosome X.
- 2) la fréquence de mutation intrinsèque de Piga est anormalement haute.
- 3) la fréquence de mutation de Piga peut être renforcée par le stress de l'hématopoïèse associé à des lésions de la moelle osseuse à médiation immunitaire [26].

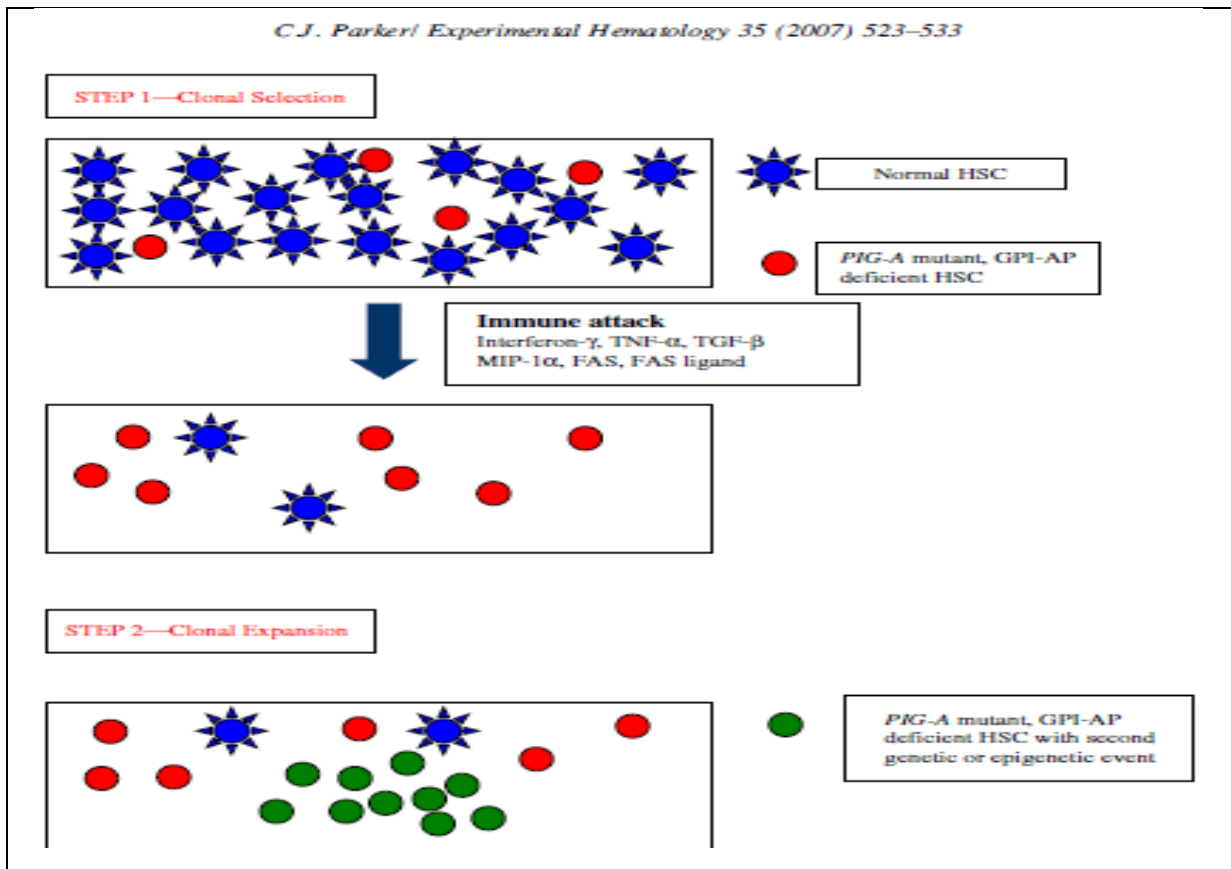


Figure.11 : Modèle des deux étapes de l'hypothèse de la physiopathologie de l'HPN. Les cellules souches hématopoïétiques et progéniteurs primitifs avec mutants *Piga* sont présents dans la moelle normale, mais ils ne sont pas apparentés puisque aucune pression de sélection n'a été appliquée et ils n'ont pas de croissance intrinsèque/avantage de survie. Dans le cadre de lésions à médiation immunitaire de la moelle osseuse, des cellules mutantes *Piga* sont choisies parce qu'elles ont une croissance/avantage de survie basées sur le phénotype GPI-AP déficients. Des SCH supplémentaires *Piga* mutantes sont produites comme conséquence de ce processus parce que la fréquence de mutations du gène est renforcée par le stress d'érythropoïèse. L'expansion clonale est le résultat d'événements génétiques ou épigénétiques qui activent les gènes et qui soutiennent les mutants *Piga*, le déficit GPI-AP renforce encore l'avantage prolifératif des cellules mutantes. Dans ces conditions, l'HPN a les caractéristiques d'une myélopathie clonale bénigne.

3. La pathogénie

Les érythrocytes : Bien qu'il soit évident que le défaut de protéines PIG-A provoque l'apparition de l'HPN, ces remarques ne peuvent pas expliquer quoi que ce soit sur les caractéristiques cliniques de l'HPN. Depuis le symptôme majeur de l'HPN qui est l'hémolyse, les érythrocytes HPN devraient avoir une certaine anomalie de structure responsable de la susceptibilité à l'hémolyse.

L'anomalie est la conséquence d'une susceptibilité excessive des cellules aux fractions terminales activées du complément (C9...) [74]. Elle résulte d'une fixation de C3 très supérieure à la normale quand le complément est activé par un Ac (voie classique) ou en sérum acidifié (voie alterne). Dans ces conditions, la fixation de C1, C4, C2 et d'Ac est identique à celles des cellules normales, mais on trouve un grand excès de C3b.

Cependant le diagnostic basé sur l'hémolyse in vitro reste difficile lorsque la population érythrocytaire anormale est minoritaire, par exemple juste après un épisode hémolytique, d'où l'intérêt d'effectuer des tests immunologiques basés sur l'utilisation d'Ac monoclonaux dirigés contre le DAF et MIRL et autres GP-AP exprimées sur les érythrocytes.

Une liste des protéines GPI ancrées sur les cellules sanguines de l'homme est montrée dans (voir les tableaux) [8].

Table 1
GPI proteins found in human blood cells

Protein	E	L	G	P	M
DAF (CD55)	+	+	+	+	+
LFA-3 (CD58)	+	+	+	—	+
CD59	+	+	+	+	+
Acetylcholinesterase	+	—	+	—	—
CDw108 (JMH antigen)	+	+	—	—	—
CD16 (FcRIII)	+	+	+	—	—
Alkaline phosphatase	—	+	+	—	—
CD14	—	—	—	—	+
CD24	—	+	+	—	—
CD48	—	+	—	—	—
CD66b (CD67)	—	—	+	+	+
CD73 (5'-nucleotidase)	—	+	—	—	—
uPAR	—	—	+	—	+

The cells that do not synthesize GPI-anchored proteins could have a trace amount of those proteins, because GPI-anchored proteins might be transferred spontaneously from normal cells to the deficient cells. E, erythrocyte; L, lymphocyte; G, granulocyte; P, platelet; M, monocyte; +, present; —, absent.

Table 2
GPI-anchored proteins found in human erythrocyte membrane

Name	M_r (kDa)	Molecules/cell ^a	Blood group
CD59	20	30 000	
CD55(DAF)	70	3000	Cr, Inab
CD58(LFA3)	60	3000	
CDw108	76	3000	JMH
Acetylcholinesterase	72	500	Yt

^aMolecules/cell indicate approximate numbers of molecules per erythrocyte.

Pour l'analyse de globules rouges dans HPN on étudie les deux antigènes CD55 et CD59 le plus souvent; L'examen des globules rouges chez le patient HPN fournit la définition la plus claire de type d'HPN , type III (déficit complet), type II (déficit partiel) et de type I (expression normale) . Les distributions de ces populations montrent une grande variation de patient à patient et la limite entre les divers types n'est pas toujours claire.

Une divergence apparente dans le niveau de globules rouges touchés par rapport à d'autres populations myéloïdes (monocytes et les granulocytes) a été signalée dans plusieurs études. Les réticulocytes représentent un chiffre plus fiable de l'érythropoïèse touchés parce qu'ils ne sont pas affectés par des transfusions antérieures, et la durée de vie plus courte des érythrocytes touchées par rapport aux érythrocytes normales résiduels [75].

Les plaquettes : les plaquettes HPN, comme les érythrocytes , sont lysées in vitro en sérum acidifié, en milieu de faible force ionique ou en présence d'Ac anti-plaquettes, dans une proportion de 10 à 30 fois supérieur à la normale. Elles fixent une concentration du complément plus élevée que les plaquettes d'un sujet sain.

La thrombopénie est expliquée par l'augmentation de la sensibilité des plaquettes au complément, une thrombopoïèse inefficace et une hypoplasie mégacaryocytaire [74].

On a démontré l'existence d'une corrélation entre le déficit en CD59 sur les plaquettes et l'hyper expression de sites à activité prothrombinase induite par le complément activé à la surface plaquettaire [77].

Cette thrombopénie rend compte du risque élevé de thrombose et d'AVC chez les patients atteints d'HPN [76]. Le pourcentage du clone des plaquettes HPN est fortement corrélé au clone des granulocytes HPN. En outre, l'utilité de diagnostic d'HPN par les plaquettes n'a pas été établie étant donné que la densité antigénique est très basse sur cette population de cellules (voir tableau) en plus elles sont toujours observées mais à un faible niveau dans le sang, inutile pour le diagnostic d'HPN [76].

Les leucocytes : Même si environ 60% des patients avec HPN souffrent de leucopénie, les leucocytes de patients HPN sont apparemment normaux et leur durée de vie est dans la plage normale.

Les granulocytes : Les polynucléaires neutrophiles possèdent la même susceptibilité accrue à l'action lytique du complément activé en sérum acide ou en présence d'Ac et la même anomalie d'ancrage des protéine GPI ancrées que les érythrocytes . La réponse chimiotactique et la phagocytose des polynucléaire sont diminuées en présence de complément activé .Ces phénomènes pourraient expliquer la sensibilité aux infections, anormales chez les malades atteints d'HPN et qui ne sont pas neutropéniques. La neutropénie n'est pas liée à la lyse des PN par le complément activé. La durée de vie des PN est normale : il s'agit d'une insuffisance de production par hypoplasie et/ou d'une margination excessive ou d'une granulopoïse inefficace [74].

Il existe plusieurs antigènes GPI ancrés exprimés sur les granulocytes, dont beaucoup sont actuellement utilisés dans le dépistage de l'HPN. Il s'agit notamment le **CD16**, CD24, CD55, CD59 et CD66. Comme avec les globules rouges, il est important de montrer la carence d'au moins deux de ces

antigènes pour établir la présence d'un clone HPN. Ceci est facilement réalisé par cytométrie de flux multi couleurs. Comme les granulocytes HPN ont une durée de vie normale et leurs proportions ne sont pas affectées par la transfusion, la taille du clone des granulocytes HPN serait un indicateur important de l'évolution de l'HPN [75].

Les monocytes : le clone des monocytes HPN est presque toujours semblable à celui des granulocytes [78]. L'analyse des monocytes HPN peut donner une mesure fiable de la taille du clone HPN, en particulier chez les patients ayant un nombre de granulocytes faible ou des proportions relativement élevées d'éosinophiles. Les monocytes HPN n'expriment pas le CD14, donc on peut l'utiliser comme indicateur pour mesurer la taille du clone HPN (voir tableau), mais le CD55 ou le CD59 peuvent être utilisés [78].

Les lymphocytes : Bien que l'HPN est une maladie sur les cellules souches, l'analyse des lymphocytes et des sous ensembles de lymphocytes pour l'expression des antigènes GPI ancrés n'est pas recommandée pour le dépistage et le diagnostic de l'HPN en raison de la longévité relative des cellules lymphoïdes en comparaison à des cellules myéloïdes. Cependant, l'analyse des lymphocytes dans l'HPN représente un unique modèle pour l'étude de la lymphopoïèse et pour fournir des indications importantes sur la production de cellules immunitaires et sur la durée de vie des lymphocytes [79]. Les analyses des lymphocytes chez les patients qui ont subi une rémission spontanée de l'HPN ont montré que les lymphocytes T et B déficients peuvent persister pendant de nombreuses années après la normalisation de globules rouges et des populations de granulocytes.

1. Aspects cliniques

L'HPN se caractérise des présentations cliniques schématiques avec un polymorphisme clinique très important.

Une étude rétrospective a été menée par la société française d'hématologie SFH sur 460 patients atteints d'HPN entre 1950 et 2005 [1]. Cette étude a permis de préciser trois présentations cliniques:

- une présentation classique ou forme classique (113/460 patients) diagnostiquée à l'occasion d'une maladie hémolytique et thrombosante, cette forme est appelée HPN « primitive » ou « de novo » et caractérisée d'une anémie hémolytique corpusculaire acquise, apparaissant chez un adulte jeune, accompagnée d'urines foncées le matin (hémoglobinurie) et parfois d'un ictère modéré. L'anémie est accompagnée de signes de régénération modérée (réticulocytose) et souvent d'une leucopénie et/ou d'une thrombopénie généralement non sévères.

- une forme aplasique (224/460 patients) diagnostiquée à la découverte d'un clone HPN chez un patient atteint d'aplasie médullaire traitée quelques mois, ou années, auparavant par immunosuppresseur. Cette présentation est appelée syndrome aplasie-HPN ou forme aplasique.

- enfin une forme intermédiaire dont le diagnostic d'HPN est associé à un certain nombre d'hémopathies malignes myéloïdes 93/460.

L'étude récente de la SFH a permis pour la première fois d'analyser séparément l'histoire naturelle des patients diagnostiqués avec une HPN de

forme classique de ceux présentant une forme aplasique [1]. Les patients atteints d'HPN de forme classique sont volontiers plus âgés (40 ans versus 30 ans pour la forme aplasique) et représentent plus fréquemment des épisodes de douleurs abdominales (35% versus 20 %). Sur le plan biologique, la taille du clone de cellules négatives pour l'ancrage GPI est plus élevée avec un patient sur deux ayant plus de 50% (versus 25%).

***International PNH Interest Group** a proposé une classification qui tient compte du tableau clinique et des variations biologiques [67].

HPN Classique: Les patients présentent les manifestations cliniques de l'hémolyse intra vasculaire, mais aucun autre symptôme correspondant à une anomalie pathologique médullaire. La moelle est riche avec une hyperplasie érythroïde et une morphologie normale à subnormale, sans aucune anomalie caryotypique récurrente.

HPN associée à une pathologie médullaire : Les patients présentent les manifestations cliniques de l'hémolyse intra vasculaire, mais aussi de façon concomitante, ou dans leur historique, une pathologie liée à un désordre médullaire. L'analyse de la moelle osseuse et la cytogénétique sont utilisées pour déterminer si l'HPN est associée à un syndrome myélodysplasique, une anémie arégénérative, ou tout autre myélopathie. Une anomalie génétique spécifique d'une pathologie médullaire peut permettre d'orienter le diagnostic.

HPN Subclinique : Les patients ne présentent aucun symptôme clinique ou biologique d'hémolyse. Dans certains cas, une petite proportion inférieure à 0,5 % de cellules HPN peut être détectée en utilisant une

cytométrie de haute précision, principalement dans les anémies arégénératives et les syndromes myélodysplasiques [67].

L'hémoglobinurie a plusieurs traits cliniques très caractéristiques :

Hémolyse et hémoglobinurie: L'hémoglobinurie est observée chez des patients dont les érythrocytes HPN III sont plus que 20% du nombre total des cellules. À l'occasion d'une infection ou d'un stress les globules rouges des patients réexpriment à leur surface des antigènes cryptiques du système Th. Les antigènes Th sont alors reconnus par le système hémoglobine aiguë, saturant les deux voies classiques d'élimination de l'hémoglobine libre : l'endocytose et la dégradation par les macrophages (liaison immunitaire, celui-ci active le complément qui n'est plus régulé par CD55 et CD59, aboutissant à une crise hémolytique. Cette hémolyse est responsable d'une à l'haptoglobine et oxydation en méthémoglobine puis dégradation par le foie). L'oxyde nitrique se lie alors de façon irréversible à l'hémoglobine libre présente dans le plasma des patients [80].

La lyse intravasculaire des globules rouges provoque l'élimination dans le plasma de l'arginase érythrocytaire, responsable de la métabolisation de la l-arginine en ornithine, diminuant la disponibilité de la l-arginine indispensable pour la synthèse de l'oxyde nitrique [81]. Le déficit en oxyde nitrique qui en découle entraîne une dysrégulation du tonus des muscles lisses et, par conséquent, des symptômes de dystonie (dysphagie, douleur abdominale et dysfonction érectile) [82].

Dans de rares cas, des patients HPN évoluent des troubles rénaux, l'HPN entraîne au niveau rénal des dépôts d'hémosidérine ,responsables chez 20% des patients d'une insuffisance rénale qui peut être sévère [82] .

Anémie par déficit en fer et anémie aplasique : Les patients atteints d'HPN ont communément un déficit en fer en raison de sa perte accrue dans les urines pendant l'hémolyse intravasculaire, à savoir l'hémosédirinurie .50 à 60 % des patients atteints d'anémie aplasique ont des cellules HPN au moment du diagnostic [66]. La concentration d'hémoglobine des patients est souvent moins de 6g /dl. La diminution de la prolifération des CSH conduit à l'anémie aplasique .les patient atteint d'anémie aplasique ont une augmentation de 10à 100 fois plus importante de la concentration d'érythropoïétine sanguine. Une augmentation similaire est observée chez les patients atteints d'HPN [67].

Leucopénie : Environ 60% des patients atteints d'HPN sont sujet de leucopénie. La leucopénie peut être expliquée par deux choses: l'anémie aplasique et la durée de vie raccourcie d'un certain groupe de leucocytes. Les leucocytes déficients en CD59 sont considérablement résistants contre l'activation autologue du complément, et ont une durée de vie presque normale, alors que les érythrocytes CD59 déficients ont une durée de vie courte, environ 10 jours pour les érythrocytes HPN III. La durée de vie des cellules sanguines a une incidence sur le ratio des cellules GPI-AP déficientes dans le sang. Les granulocytes vivent environ 2 semaines alors que les érythrocytes vivent environ 120 jours ; par conséquent, les granulocytes déficients augmentent plus rapidement que les érythrocytes déficients lorsque les cellules souches déficientes augmentent [1]. Les lymphocytes peuvent se

développer en dehors de la moelle osseuse, l'augmentation des lymphocytes déficients ne reflète pas l'augmentation des CS déficientes. La proportion de lymphocytes affectée est généralement inférieure à celle de granulocytes. Les sous ensembles de lymphocytes sont très variable selon les patients, bien que les cellules NK ont tendance à être moins abondantes dans l'HPN [1].

Thrombose et hémorragie : La complication essentielle de l'HPN est la maladie thrombo-embolique intéressant les gros troncs veineux. Des atteintes cérébrales et pulmonaires sont également décrites [83 .84], on a également des cas de thrombose artérielle mais rares. La thrombose est observée chez un tiers des patients HPN, préférentiellement au niveau des veines intra abdominales, parmi les veines intra abdominales, les veines hépatiques sont les plus fréquemment touchées par la thrombose qui se manifeste par un syndrome de Budd-Chiari. Les veines porte, splénique et mésentérique supérieure peuvent être également touchées. Le syndrome de Budd-Chiari est une manifestation d'occlusion veineuse hépatique comprenant une combinaison clinique de douleurs abdominales, ictère, hépatomégalie et ascite [85].

La diminution du taux des plaquettes par la dégradation du à l'activation autologue du complément dans l'HPN provoque une tendance au saignement. Toutefois, plus de la moitié des patients ont tendance à avoir une thrombose, indiquant que l'augmentation de plaquettes dégradées active la coagulation sanguine. Les thromboses représentent environ 50% des poussées mortelles sur les patients atteints d'HPN dans les États-Unis [1]. La plupart des patients qui souffrent d'une thrombose veineuse hépatique meurent dans quelques mois. L'hémorragie cérébrale et gastro-intestinale

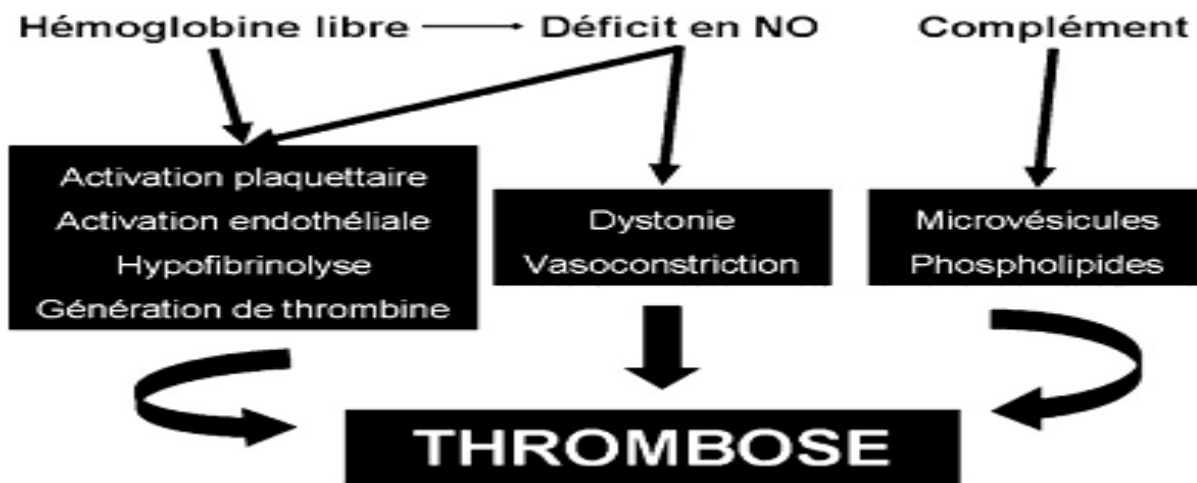
reste l'une des causes les plus fréquentes de tous les décès chez des patients japonais atteints d'HPN [1].

En outre, les japonais ingèrent beaucoup de poisson riche en acides gras poly insaturés, qui est connu prévenir les thromboses. Par conséquent, les japonais ont une tendance à l'hémorragie plutôt qu'aux thromboses. Donc la diététique peut provoquer la diversité d'apparition fatale soit des thromboses ou hémorragies.

Plusieurs hypothèses sont évoquées pour expliquer la physiopathologie des thromboses dans l'HPN (voir la figure) :

-Le déficit en oxyde nitrique entraîne une activation endothéliale, une vasoconstriction, une inflammation et la génération de thrombine [86].

-L'action du complément cause aussi la formation de microvésicules ou microparticules circulantes à partir des plaquettes activées ou des globules rouges lysés par voie intravasculaire . Ces microparticules, riches en phospholipides, extrêmement pro coagulantes in vitro, sont présentes à de fortes concentrations dans le plasma des patients avec HPN, donc provoquant une perturbation du système plasminogène/plasmine en raison de l'uPAR, qui est absente sur les cellules HPN et augmenté dans le plasma de ces patients.[87].



Principales hypothèses expliquant la survenue de thrombose en cas d'HPN.

La localisation des thromboses est précisée par une méta analyse de la littérature de 1953 à 2006 [83].

Les thromboses veineuses atteignent par ordre de fréquence décroissant les veines sus-hépatiques (40,7 %), d'autres veines profondes (14,9 %), les veines du système nerveux central (14 %), la veine porte (10,2 %), la veine cave inférieure (7,2 %), les veines mésentériques (7,2 %), la veine splénique (5,8 %), les veines rénales (3,3 %) ; la fréquence de l'embolie pulmonaire est de 7,2 %.

Les thromboses artérielles sont moins fréquentes : artères cérébrales (4,9 %), artères coronaires (3,3 %), artère hépatique (1,4 %).

Le risque de thrombose augmente selon la taille du clone HPN avec un facteur de 1,64 pour chaque augmentation de 10% de la taille du clone granuleux GPI : l'incidence des thromboses est de 5,8% si la taille du clone est

inférieure à 50%, mais atteint 44% si la taille du clone est supérieure à 50% [88].

Leucémie et syndromes myélodysplasiques (SMD) : Environ 2,5 à 5 % des patients atteints d'HPN développent une leucémie aiguë myéloblastique (LAM) à 10ans. Ainsi l'HPN peut être considérée comme une étape pré leucémique. Les protéines GPI ancrées sont également déficientes dans la leucémie évoluée, ce qui indique que les cellules leucémiques évoluent à partir des cellules souches déficient PIG-A [22]. Un taux important de patients HPN avec des complications de leucopénie présente des syndromes myélodysplasiques (SMD). Ces patients présentent un risque élevé d'évoluer une leucémie, parce que ils ont clairement des mutations de gènes supplémentaires autre que la mutation de PIG-A, de sorte qu'un risque de leucémie est susceptible d'apparaître. Un gène putatif muté chez les patients avec l'HPN SMD est le p15NK4B .Ses patients ont un phénotype HLA DR15, une bonne réponse à la cyclosporine [67].

Aplasia médullaire : Au cours de l'aplasie médullaire, un tiers des patients présentent soit au diagnostic, soit au cours de l'évolution un clone HPN. L'aplasie médullaire est considérée actuellement comme une maladie auto-immune. L'hypothèse est que l'antigène impliqué dans le développement de l'aplasie médullaire est un antigène GPI ancré ; les cellules du clone HPN n'ayant pas cet antigène GPI ancré auraient ainsi un avantage de survie les mettant à l'abri de l'agression auto-immune et favorisant leur expansion[22].

2. Cas particulier de grossesse :

Il n'existe à l'heure actuelle que très peu de données concernant les grossesses chez des patientes HPN : rareté de la maladie, rareté encore plus grande des femmes atteintes d'HPN en âge de procréer et désireuses de grossesses.

Concernant l'impact de l'HPN sur les grossesses, la littérature est peu abondante et rapporte essentiellement des cas dramatiques, laissant à penser que les grossesses au cours de l'HPN ne peuvent être que catastrophiques. En 2005, un groupe international d'experts de l'HPN, a publié des recommandations concernant la prise en charge des patients HPN dans lesquelles la grossesse est décrite comme une situation à haut risque [3]. Il est donc formellement demandé aux médecins de délivrer aux patientes désireuses d'une grossesse, une information préalable claire sur les risques encourus. Le suivi de la grossesse devra ensuite impérativement être rapproché et effectué conjointement par le médecin suivant la patiente pour son HPN et une équipe obstétricale spécialisée dans les grossesses à risque. Enfin, une prophylaxie antithrombotique est recommandée pendant toute la grossesse et doit impérativement être prolongée en postpartum, période à très haut risque thrombotique [76].

DEUXIEME PARTIE

**ATTITUDE THERAPEUTIQUE
DE L'HPN**

1. Circonstances de découverte :

Il est essentiel de bien connaître la maladie afin de savoir évoquer le diagnostic devant un cortège de signes, qui, pris individuellement n'ont que peu de valeur diagnostique et ne peuvent d'emblée être rattachés à l'HPN, mais qui, associés, forment un tableau évocateur directement d'HPN.

L'interrogatoire est essentiel, à la recherche de signes associés non évoqués par le patient, pour identifier tous les symptômes.

Plusieurs symptômes classiquement décrits chez les patients HPN permettent de poser le diagnostic :

-épisodes d'hémoglobinurie sans cause apparente dans un contexte d'hémolyse intravasculaire, avec urines rouges noires ou porto à différencier de l'hématurie.

-pancytopénie avec hémolyse quel que soit la richesse médullaire;

-carence en fer avec hémolyse inexplicée;

-thromboses veineuses récidivantes surtout intra abdominales;

-crises douloureuses abdominales dans un contexte d'hémolyse chronique inexplicée;

-association de douleurs abdominales, de thrombopénie, de dysphagie et une dysfonction érectile ;

- aplasie médullaire, une anémie réfractaire, une myélodysplasie atypique ;
- hypertension artérielle pulmonaire ;
- insuffisance rénale aiguë ;

Les thromboses sont un élément majeure surtout celles de site particulier (jugulaire, Budd-Chiari....), thrombose difficile à traiter, voire récidivant malgré un niveau d'anticoagulant efficace, association d'une thrombose veineuse et artérielle, tableau clinique rarement retrouvé en médecine [1].

2. Les tests biologiques :

2.1. Les anomalies sanguines :

L'anémie: l'hémogramme montre une anémie sévère, avec un taux d'Hb souvent inférieur à 6g/dl. C'est une anémie normochrome, normocytaire, ou macrocytaire, ou parfois hypochrome microcytaire.

L'anémie est accompagnée de signes de régénération modérée (réticulocytose) mais l'hémolyse est franche, et également accompagnée souvent d'une leucopénie et/ou d'une thrombopénie généralement non sévères.

La bilirubine non conjuguée est élevée et les hématies ont une morphologie normale, il n'y a pas de sphérocytes et la résistance osmotique est normale. Il s'agit d'une anémie hémolytique avec haptaglobinémie basse ou

nulle et très souvent hémosiderinémie permanente. Le test de Coombs est négatif. La perte de fer par les urines peut atteindre 8mg/jour [74]. Lorsque l'anémie est microcytaire et hypochrome avec sidéropénie marquée, l'hémolyse peut également être d'attente et n'apparaît qu'après administration de fer [74].

La leucopénie : est fréquente dans 60 % des cas et parfois sévère, elle est alors liée à une neutropénie avec lymphocytose relative. Cette leucopénie peut résulter soit d'une hypoplasie médullaire, soit d'une augmentation de la margination des granulocytes sanguins. La durée de vie des neutrophiles est normale. L'activité phosphatase alcaline (PAL) est souvent abaissée et parfois même nulle [89]. La concentration d'acétylcholinestérase leucocytaire est souvent abaissée. On a mis en évidence diverses anomalies fonctionnelles des leucocytes, du chimiotactisme et de la phagocytose.

Il existe deux population de neutrophiles: une population avec un contenu en PAL normal, et une population anormale avec un contenu en PAL diminuée, cela est du au fait que les PAL sont des GPI-AP [89].

La thrombopénie : observée dans 80 % des cas, modérée, la durée de vie et les fonction des plaquettes, sont en général normales. La richesse de la moelle en mégacaryocytes est normale ou diminuée [89].

Les trois lignées myéloïdes peuvent être atteintes se traduisant par une pancytopénie qui existe dès la découverte de la maladie dans 40% des cas, et peut être accompagnée d'une moelle plus souvent aplasique que dysplasique [90]. une neutropénie ou une thrombopénie isolée peuvent être le signe révélateur, l'anémie hémolytique même discrète, oriente le diagnostic.

2.2. Les anomalies plasmatiques :

Le plasma peut avoir une coloration dorée pale, traduisant la présence de concentration élevée de bilirubine libre, d'hémoglobine et de methalbumine. L'haptoglobine sérique est très diminuée et le taux de LDH peut être anormalement élevée au cours des poussées d'hémolyse intravasculaire. En l'absence d'une LDH élevée, le screening pour une forme clinique d'HPN en cytométrie classique ne se justifie pas. Bien entendu, ce critère diagnostique ne concerne pas les HPN subcliniques puisque par définition il n'y a pas d'hémolyse significative [89].

2.3. Les anomalies urinaires :

La concentration d'urobilinogène urinaire est très augmentée lors de la poussée d'hémolyse. Une hémolyse intravasculaire importante aboutit à une déplétion du sérum en haptoglobine [89]. L'hémoglobinurie entraîne au niveau rénal des dépôts d'hémosidérine responsables chez 20% des patients d'une « insuffisance rénale » qui peut être sévère [91]. Une albimunurie peut précéder ou suivre un épisode d'hémoglobinurie.

2.4. Les anomalies médullaires :

L'HPN n'est pas un simple diagnostic, la cytométrie sur le sang périphérique doit être associée à l'analyse de la moelle osseuse pour avoir une classification rigoureuse de la maladie. L'hyperplasie érythroblastique est l'anomalie la plus courante, jusqu'à 50% des cellules de la moelle peuvent être des érythroblastes ; dans quelques cas, il existe une mégaloblastose, le nombre

de mégacaryocytes est parfois diminué [67]. L'HPN fait partie des diagnostics à évoquer devant une pancytopénie à moelle non désertique [1].

2.5. Etudes cytogéniques :

Le caryotype des cellules de la moelle est tantôt normal, tantôt anormal. Les anomalies cytogénétiques décrites au cours de l'HPN comportent une perte du chromosome Y, une trisomie 9, une délétion d'un segment du bras long d'un chromosome du groupe B et la disparition d'un chromosome des groupes C ou G [89]. Aucune de ces anomalies cytogénétiques ne peut être considérées comme une aide au diagnostic d'HPN.

3. Les méthodes de diagnostic biologique

Les méthodes de diagnostic biologique sont de deux types : (1) ceux basés sur la sensibilité accrue des érythrocytes à la lyse médiée par le complément, (2) et ceux qui mettent en évidence un déficit en protéines GPI ancrées grâce à l'utilisation d'anticorps monoclonaux spécifiques en cytométrie de flux [29].

Les tests d'hémolyse utilisant la sensibilité des érythrocytes au PH (test de HAM DACIE) ou au sucrose sont faciles à mettre en œuvre puisqu'ils ne nécessitent pas de matériel particulier. Ils permettent un diagnostic rapide et fiable, à condition que la population érythrocytaire anormale soit suffisamment importante. Ce manque de sensibilité et le fait que le diagnostic différentiel avec d'autres syndromes, en particulier les dysérythropoïèses de type II (ou HAMPAS : Héridatary Erythroblastic Multinucléarity with a Positive Acidified Serum test), est d'interprétation délicate, tous ça fait

préférer l'utilisation des Ac Mo dirigés contre les molécules DAF et MIRL. Notons que des travaux ont permis d'établir une corrélation parfaite entre le degré d'hémolyse (test de HAM DACIE) et l'expression de la glycoprotéine CD55 érythrocytaire.

Devant un tableau clinique très évocateur d'HPN, le test de HAM DACIE et le test au sucrose pourraient être suffisants pour porter le diagnostic [76], cependant, la sensibilité et la spécificité de l'immunophénotypage en CMF, permettent à la fois l'analyse de l'expression des molécules GPI sur les lignées hématopoïétiques résiduelles normales et l'évolution du clone HPN malgré les transfusions, font actuellement préférer cette technique. Il y a également les techniques de biologie moléculaire, permettant de mettre en évidence une altération du gène PIG-A, identifié comme le gène responsable du déficit en GPI-AP dans l'HPN ,mais restent actuellement des méthodes de recherche lourde à mettre en œuvre[67].

3.1. Les tests d'hémolyse in vitro

Les tests classiques, test de Ham et Dacie et test au sucrose, sont actuellement abandonnés et le diagnostic est de nos jours assuré par la cytométrie en flux. Cette technique offre de multiples avantages [76].

3.1.1. Le test de Ham-Dacie ou test d'hémolyse en sérum acidifié :

Le test de Ham repose sur la lyse des globules rouges en présence du complément activé. Ce test mesure l'hémolyse survenant lors de l'incubation des hématies du patient à 37°C pendant 45min en présence de plusieurs échantillons de Sérum humain frais acidifié à PH (6,5 à 7). Après centrifugation, l'hémolyse

est appréciée à l'œil nu ou au spectromètre par la couleur du surnagent. Les réactions témoins utilisant les mêmes échantillons sériques, mais décomplémentés par le chauffage à 56°C pendant 30min, et doivent être négatives. Le degré d'hémolyse dépend du taux des globules rouges anormal dans l'échantillon. Il varie donc d'un malade à l'autre et dans le temps chez le même malade [29].

Ce test pose un problème de faux négatifs lorsque le taux des globules rouges atteints est inférieur à 5 %, ainsi qu'il ne peut pas faire la différence entre le type III et type II. Ce test ne peut pas donner une identification des autres lignées cellulaires en dehors des globules rouges, alors que la proportion des neutrophiles dans l'HPN donne une meilleure estimation sur la vraie proportion des clones HPN lorsqu'ils sont indépendants de l'hémolyse ou des transfusions récentes [29]. Ce test admet également de faux positives, en particulier chez les maladies présentant une dysérythropoïèse de type II, mais dans ce cas le test de sucrose est négatif[76].

3.1.2. Le test au sucrose (ou test d'hémolyse au sucrose):

Le test au sucrose est un test de dépistage, il mesure l'hémolyse survenant lors de l'incubation des hématies du patient dans une solution de sucrose de faible force ionique qui favorise la fixation du complément sur la membrane [93]. La fragilité érythrocytaire est recherchée en incubant à température ambiante des hématies préalablement mises en suspension saline dans une solution comportant du sucrose 10 % (au faible pouvoir ionique), qui favorise la fixation du complément sur la membrane des globules rouges, avec un pH 6,3 (apport énergétique) et du sérum frais (apport de

complément), une centrifugation est effectuée et l'hémolyse du surnageant est évaluée visuellement.

L'activation du complément qui survient est attribuée à une réaction Ag-Ac ou à une activation par voie alterne. Le test n'est significatif que si l'hémolyse est supérieure à 5%. Il doit être positif aussi en sérum normal. Il peut être positif en cas d'hémolyse immunologique si l'on utilise seulement le sérum du malade.

C'est un test simple et très sensible ; sa négativité rend l'HPN très peu probable, sauf s'il s'agit d'un sujet récemment transfusé ou si l'on a utilisé de l'héparine ou l' EDTA comme anticoagulant [93]. Sa positivité peut s'observer dans certains états dysérythropiétiques, érythroleucémies ou leucémies myéloblastiques.

3.1.3. Le test de lyse à la chaleur :

C'est un test très sensible et très simple mais non spécifique et peu utilisé. Il mesure la lyse spontanée des hématies à la teinte rouge du sérum exsudé du sang coagulé 3h à 37°C, il peut donner des faux positif dans les sphérocytoses héréditaires et dans les hémolyses immunologiques [74].

3.1.4. Le test de lyse par une agglutinine froide :

La fixation et l'activation du complément sur les hématies, qui entraînent leur lyse, sont obtenues avec de très faibles concentrations d'agglutinines froides en présence de complément. Ce test, positif dans d'autres dysérythropoïèses congénitales ou acquises, permet en cas d'HPN une

appréciation assez précise du pourcentage de cellules anormales [74]. Cette information est également obtenue par la CMF.

3.2. Autres approches diagnostiques :

FLAER : le FLAER (Fluorescently Labelled Aerolysin) utilise la propriété de l'aérolysine; une toxine bactérienne, à se fixer aux globules rouges par l'intermédiaire de l'ancre GPI et former des canaux dans la cellule membranaire qui mène à l'hémolyse. Ce test pourrait être utilisé pour le dépistage de la PNH et peut détecter de faibles niveaux de cellules GPI déficientes. Une modification de cette approche est le développement d'un mutant, sous forme non hémolytique de la toxine qui peut se lier à l'ancre GPI sans provoquer de lyse. L'aérolysine Fluorescente marquée se lie fortement et spécifiquement à un point d'ancrage GPI et peut différencier entre des cellules normales et cellules HPN à un niveau d'environ 0,5% [75]. L'avantage potentiel d'utiliser l'aérolysine fluorescente est qu'un seul, réactif très spécifiques pourraient être utilisées pour toutes les lignées de cellules à la place de l'aide de plusieurs anticorps monoclonaux pour des antigènes GPI ancrés. Cette approche doit être validés sur un grand nombre de cas de l'HPN[75].

La baisse d'activité d'acétylcholinestérase, érythrocytaire est constante dans les formes sévères. Elle est en fonction de la proportion d'hématies anormales. Elle est absente dans les formes atténuées et elle est nulle dans la population anormalement sensible au complément [76]. Cette information est obtenue également par la cytométrie de flux.

4. Les tests immunocytologiques en cytométrie de flux :

La cytométrie en flux est une technique objective, sensible et quantitative qui permet de mesurer simultanément et très rapidement plusieurs paramètres sur un nombre important de cellules. Ces propriétés font de la cytométrie en flux une technique particulièrement adaptée à l'analyse des populations cellulaires complexes, des événements rares et aux études quantitatives. Concernant l'immunohématologie, la cytométrie en flux est un outil très utile, voire irremplaçable, pour l'étude des doubles populations, la mise en évidence de sous populations d'hématies de faible fréquence (réticulocytes, hématies fœtales dans la circulation sanguine maternelle) et l'analyse quantitative de l'expression des antigènes de groupes sanguins [94].

L'analyse de référence pour le diagnostic de l'HPN est la cytométrie en flux sur sang périphérique [78]. Elle remplace le test classique de HAM et Dacie mesurant la lyse des érythrocytes en présence de sérum acidifié ou de sucrose. Pour une étude initiale, la quantification d'au moins 2 molécules ancrées au GPI est nécessaire pour exclure la possibilité d'artéfact ou un déficit isolé d'une protéine GPI ancrée. Pour des patients déjà diagnostiqués, avec une maladie documentée et suivie, l'**International PHN Interest Group** recommande un contrôle annuel par cytométrie. Cependant toute altération des paramètres cliniques induit de réévaluer immédiatement la proportion du clone HPN.

Les molécules GPI ancrées les plus faciles d'accès sont le CD14 sur les monocytes, le CD16b sur les neutrophiles, le CD24 sur les lymphocytes B et les cellules myéloïdes, le CD48 sur les lymphocytes, cellules NK et

monocytes, le CD52 (ou Campath 1), le CD55, le CD59, le CD73 sur les lymphocytes, le CD87, le CD108 sur les hématies [78].

Classiquement l'analyse est réalisée en mesurant le CD55 et le CD59 sur les érythrocytes et les polynucléaires à l'aide d'anticorps spécifiques. On doit étudier les deux populations car comme il s'agit d'une maladie anémiant, les transfusions fréquentes peuvent conduire à minimiser la taille du clone sur les globules rouges. L'analyse doit donc être réalisée avant toute transfusion ou à distance d'au moins 1 mois de tout épisode transfusionnel. De plus, il apparaît parfois (5 % des cas) que l'anomalie ne soit détectable que sur les leucocytes, qui ne sont pas, ou peu attaqués par le complément et conservent donc une durée de vie normale, reflétant mieux ainsi la proportion effective du clone HPN.

L'HPN classique se diagnostique facilement [66] avec l'utilisation de certains kits pré calibrés mettant en oeuvre une mesure quantitative de la population déficiente, cependant la cytométrie en flux permet d'avoir un diagnostic plus précis. En effet, outre l'identification des populations déficientes, elle permet de quantifier ces populations et surtout de mettre en évidence des taux d'expression différents de ce déficit, en particulier sur les hématies (Fig. 12). Les érythrocytes totalement déficients en CD55/CD59 sont dits HPN III, ceux avec une expression intermédiaire sont dits HPN II et les érythrocytes normaux sont dits HPN I.

Afin d'établir ce type de gradient d'intensité de fluorescence, il est nécessaire d'établir des témoins qui seront analysés en même temps que le patient [78].

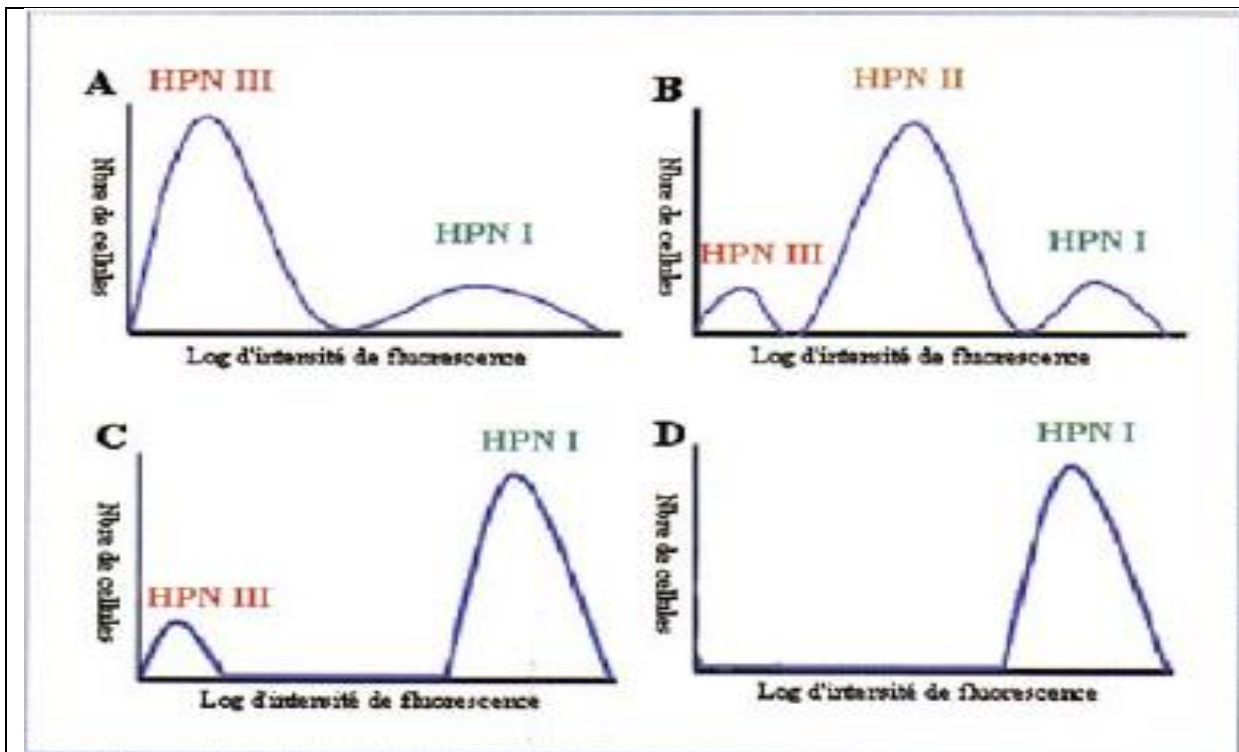


Figure.12 : Mosaïcisme phénotypique de l'HPN : représentation schématique des histogrammes de fluorescence dans divers cas.

- A- patient avec majorité des cellules HPN III et forte hémolyse.
- B- patient avec majorité des cellules HPN II mais faible hémolyse.
- C- patient avec minorité des cellules HPN III et faible hémolyse.
- D- patient normal.

Cytométrie en flux de haute précision : une variation de 3 ~1 5 % du taux d'expression du CD55 et du CD59 peut suffire dans le diagnostic de l'HPN classique, dans le cas des HPN subclinique, le clone représente souvent moins de 0,1% de la population étudiée. La cytométrie standard, monochromatique, n'est plus suffisante, il faut recourir au moins une étude en 2 couleurs avec un fenêtrage d'exclusion précis, pour éliminer toute trace de fantômes de cellules

lysées durant la préparation [76]. Il est préférable de coupler le CD55 et le CD59 au même fluorochrome pour exclure d'emblée les déficits isolés d'un seul de ces deux marqueurs. Cette technique permet de gagner 3 logs de précision ainsi que de détecter des événements aussi rares que 0,005 % de la population comptée.

5. Imagerie

Les examens d'imagerie sont nécessaires au diagnostic des manifestations thromboemboliques compliquant l'évolution de la maladie, intéressant préférentiellement le système hépato-splénique et le cerveau.

Échographie doppler : L'échographie doppler est une méthode de première intention pour l'examen non invasif des vaisseaux, aussi bien superficiels que profonds ainsi que pour le diagnostic et la surveillance du traitement des thromboses portales [95]. Il possède une grande sensibilité, en particulier pour le diagnostic des thromboses veineuses profondes. Ceci a été rendu possible grâce au développement des techniques couplées à l'imagerie en deux dimensions, surtout le doppler couleur. En cas de thrombose veineuse, notamment sus-hépatique, portale ou mésentérique, l'échographie doppler permet d'affirmer la thrombose.

Scanner ou tomодensitométrie (TDM): La TDM est un examen performant pour le diagnostic de thrombose récente, aiguë ou d'infarctissement notamment hépatique, splénique ou mésentérique, cet examen nécessite l'injection de produit de contraste iodé (opacifiant), qui peut entraîner des épisodes hémolytiques au cours de cette maladie. Il recherche des anomalies qui ne sont pas visibles sur des radiographies standard ou à l'échographie [85].

Imagerie par résonance magnétique: L'imagerie par résonance magnétique (IRM) visualise aussi bien que la tomodensitométrie l'anatomie du système porte. Son intérêt réside dans une meilleure capacité à caractériser les masses hépatiques et pancréatiques compliquées de thrombose portale d'où son principal avantage par rapport à la tomodensitométrie. L'IRM permet, en cas de douleur abdominale au cours d'une HPN, de faire la part entre une crise hémolytique et une complication vasculaire. Cette méthode d'imagerie doit faire partie intégrante du bilan initial d'une HPN et du suivi évolutif des malades [85].

6. Diagnostic différentiel :

L'hémoglobinurie paroxystique nocturne avec un tableau clinique très polymorphe induit en erreur vers d'autre pathologie, donc il faut éliminer tous les éléments qui peuvent fausser le diagnostic [1]. L'HPN doit être distinguée des anémies hémolytiques immunes notamment de l'hémoglobinurie paroxystique au froid et de la maladie des agglutinines froides ainsi que la dysérythropoïèse de types II (HAMPAS: Héridatary Erythroblastic Multinucléarity with a Positive Acidified Serum test). En générale il faut penser à une HPN devant une anémie hémolytique inexplicée à test de Coombs direct négatif, il faut éliminer la maladie de Behçet, et l'homocystinurie familiale étant donné que l'HPN appartient avec ces deux pathologie au syndrome des antiphospholipides qui est un groupe de maladies pouvant entraîner une thrombose à la fois artérielle et veineuse. Les thromboses survenant chez des sujets jeunes doivent faire rechercher d'autres maladies thrombophiliques. En cas d'urgence et devant des douleurs abdominales, il faut éliminer les tableaux

chirurgicaux aigus en particulier : tableau d'appendicite, de péritonite, ou de colique hépatique [1].

La conduite à tenir devant une HPN est très compliquée par l'extrême variabilité du tableau clinique. La rareté de cette maladie a longtemps conduit à l'emploi de thérapeutiques variées dont l'intérêt potentiel était difficilement évaluable. La tendance naturelle de la maladie à s'exacerber par des crises hémolytiques déclanchées par des médicaments, exercices physiques violents, stress psychique, grossesse, hyper alimentation , doit être enseignée aux patient afin qu'il puissent les éviter dans la mesure du possible.

L'hémoglobinurie paroxystique nocturne est l'une des rares pathologies clonale non néoplasique. La population HPN n'est pas agressive envers l'organisme, ainsi, la cible d'un éventuel traitement ne doit pas être le (s) clone (s) HPN, mais plutôt le mécanisme causant des dégâts sur les cellules souches normales. Récemment un médicament spécifique a profondément modifié la prise en charge de l'HPN : l'éculizumab. Il s'agit d'un anticorps monoclonal inhibant le complément, au coeur de la physiopathologie de la maladie [96].

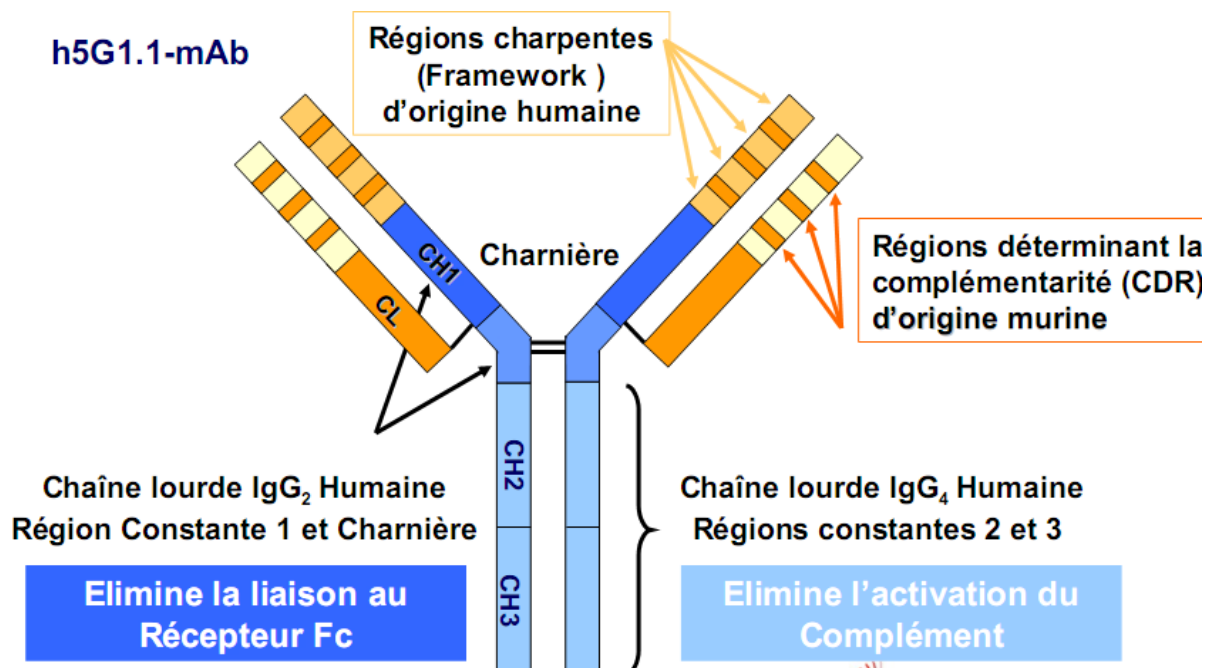
1-Traitements spécifiques

*** Anticorps monoclonal anti-C5 humanisé : Eculizumab :**

Comment pouvons-nous protéger les globules rouges de l'activation du complément ?

Et si l'on ne peut pas modifier les anomalies de la membrane des érythrocytes, peut-on lutter contre l'activation du complément?

Pour palier à ce problème le laboratoire Alexion Pharma, société de biotechnologie américaine, a développé le premier anticorps monoclonal anti-C5 humanisé **l'éculizumab (Soliris®)**, il se lie spécifiquement à la fraction C5 du complément avec une affinité élevée. Parmi les différents éléments de la cascade du complément, la cible C5 est particulièrement intéressante car, d'une part, toutes les voies d'activation du complément passent par C5, ce qui permet d'obtenir une inhibition quelle que soit la voie d'activation impliquée et, d'autre part, l'inhibition de son clivage empêche la formation de C5a, molécule hautement pro inflammatoire, et de C5b, molécule indispensable à la formation du CAM, élément clé impliqué dans la lyse érythrocytaire. Par ailleurs, en agissant sur C5 et donc exclusivement sur la voie effectrice terminale, les composants précoces de l'activation du complément essentiels à l'opsonisation des microorganismes et à la clairance des complexes immuns sont préservés [96]. Il entraîne, à la concentration plasmatique de 35 µg par millilitre, une réduction rapide et durable de l'activité hémolytique induite par le complément. Soliris® a obtenu son AMM dans l'HPN en 2007 et a été évalué avec une ASMR de niveau II.



Il est réservé à l'usage hospitalier et ne peut être prescrit que par les hématologues ou les internistes. Le traitement par éculizumab nécessite une phase thérapeutique initiale de cinq semaines suivie d'un traitement d'entretien. Le schéma posologique est le suivant : quatre perfusions hebdomadaires (en 25 à 45 minutes) de 600 mg, puis dès la cinquième semaine perfusions de 900 mg toutes les deux semaines. Le contrôle de l'hémolyse est vérifié par des dosages réguliers du taux de LDH. Un ajustement de l'intervalle de doses peut s'avérer nécessaire dans certains cas avec un raccourcissement de l'intervalle à 12 jours.

La tolérance est bonne. Les céphalées sont l'effet indésirable le plus couramment observé (44,2% versus 27,3% sous placebo), d'intensité légère à modérée et ne persistant pas au delà de la phase d'administration initiale. Les autres évènements rapportés avec une fréquence augmentée d'au moins 5% par rapport au groupe placebo sont : rhinopharyngites (25 %), nausées (17,1 %),

fièvre (14,3 %), myalgies (7,9 %), fatigue (7,9 %), et infection à Herpes simplex (5,7 %) [97,98].

L'activation terminale du complément étant inhibée par l'éculizumab, les patients traités présentent une susceptibilité accrue aux infections à méningocoque (*Neisseria meningitidis*). Des recommandations ont été émises par l'Afssaps pour prévenir ce risque. Il est nécessaire de vacciner les patients au moins deux semaines avant l'initiation du traitement par un vaccin tétravalent A,C,W,Y135 conjugué. La vérification préalable de la vaccination antiméningocoque est exigée par l'envoi obligatoire au laboratoire Alexion d'un certificat de vaccination.

Trois essais cliniques indépendants ont démontré l'efficacité de l'éculizumab [97, 98,99, 100]. L'éculizumab réduit significativement les critères biologiques d'hémolyse (LDH, hémoglobine libre), les besoins transfusionnels (50% des patients traités deviennent totalement indépendants des transfusions globulaires), les thromboses (réduction de 85 à 94% du taux de thrombose pour 100 années patients) et le risque d'aggravation de l'insuffisance rénale (4,9% versus 14,3% dans le groupe placebo). De manière cliniquement et statistiquement significative, les patients traités par éculizumab sont moins fatigués (score Facit-Fatigue) et présentent une amélioration de leur qualité de vie (échelle Eortc- Q1q-C30). Cette amélioration de la qualité de vie et de la fatigue observée sous éculizumab indépendamment du degré d'anémie indique le rôle propre de l'hémolyse intravasculaire et du déficit en monoxyde d'azote dans l'altération de la qualité de vie présentée par les patients HPN.

Chez la femme enceinte, l'éculizumab ne doit être administré que si son usage est manifestement nécessaire. Chez la femme allaitante, l'allaitement doit être interrompu et jusqu'à cinq mois après le traitement.

La forme classique, hémolytique, sans cytopénie est une indication non discutable au traitement par éculizumab. Dans la forme aplasique, l'éculizumab pourra être discuté seulement si cette forme aplasie HPN s'accompagne d'une hémolyse [101].

Dans le cadre du suivi des patients traités par éculizumab, les patients sont prélevés avant chaque administration d'éculizumab afin de disposer d'une cinétique précise. Les tests sont effectués sur du sang veineux périphérique. Le bilan d'hémolyse inclut un hémogramme, dosage d'haptoglobine, d'orosomucoïde, de LDH, de bilirubine totale, conjuguée et non conjuguée, d'hémoglobine glyquée, une mesure des résistances osmotique et mécanique érythrocytaires, des tests directs (TDA) et indirects à l'antiglobuline humaine et une recherche d'agglutinines froides [102].

Les marqueurs CD55, CD58 et CD59 sont étudiés sur les érythrocytes par cytométrie en flux .Le CD58. Sur les polynucléaires (PN), les trois mêmes marqueurs sont explorés. Enfin, sur les monocytes (MN), le marqueur récepteur du lipopolysaccharide (CD14) est évalué [102].

***Les immunosuppresseurs:** Le traitement immunosuppresseur, qui est utilisé pour le traitement de l'anémie aplasique, est généralement inefficace pour le traitement de l'HPN. Toutefois une hypoplasie avancée sérieuse de la moelle osseuse peut être améliorée avec ce traitement, en indiquant que les circonstances immunologiques facilitent la gravité clinique de l'HPN. La guérison spontanée est parfois observée dans une petite portion de patients, chez

de tels patients, les cellules HPN sont absentes pendant au moins plusieurs années [101]. Une étude a montré que jusqu'à 15% des patients ont été spontanément guéris. La ciclosporine et le sérum antilymphocytaire sont employés avec succès dans certaines formes très pancytopéniques [101].

***La greffe de moelle osseuse**: bien que la greffe de moelle osseuse puisse être très efficace, les transplantations doivent être réservées aux patients avec des conditions sévères tel que l'hypoplasie sévère et la thrombose récurrente. Certains patients traités avec une transplantation de greffe moelle osseuse syngénique rechute après plusieurs années avec l'HPN. Fait intéressant, le caractère récidivant des cellules HPN est distincts des cellules HPN originale, ce qui suggère qu'une mutation PIG-A s'est produit de nouveau chez ces patients . Les trois indications classiques de la greffe de moelle osseuse sont :

- L'aplasie médullaire ;
- Les complications thrombotiques répétées ;
- Les crises hémolytiques sévères récurrentes [76].

L'incidence de survenue de maladie du greffon contre l'hôte est élevée puisqu'elle concerne près d'un tiers des malades pour la forme aiguë sévère et 35% des patients développeront une forme chronique de la maladie.

2. Traitements symptomatiques et préventifs :

***Les anticoagulants:** des anticoagulants comme l'héparine sont indiqués dans les thromboses, mais la place des anticoagulants est loin d'être claire. En cas de thrombose avérée, le traitement anticoagulant n'est en aucun cas protecteur à 100% du risque de récurrence de thrombose [25].

Une prévention primaire des thromboses est mise en place chez les patients Européens et Afro-américains, quand le clone granuleux GPI (-) dépasse 50 %, on utilise les antivitamines K avec un INR situé entre 2 et 3; le risque hémorragique de ce traitement n'étant pas nul (deux hémorragies sévères pour 100 patient/années de traitement), il faut tenir compte dans son indication de l'âge, des comorbidités, et de la compliance au traitement [88].

La prévention secondaire chez les patients ayant présenté une thrombose repose sur les antivitamines K à vie avec un INR entre 2 et 3 ; en cas d'inefficacité, il faut obtenir un INR entre 3 et 4, ou utiliser les héparines de bas poids moléculaire. Les antiagrégants plaquettaires ne sont pas conseillés, car ils n'ont pas prouvé leur efficacité et augmentent le risque hémorragique.

Le traitement préventif par l'héparine de bas poids moléculaire est mis en place pendant toute la durée de la grossesse (avec éventuellement utilisation des antivitamines K au cours du deuxième trimestre) [76].

***Fer, acide folique et EPO :** Fer, acide folique et sang sont donnés pour le traitement de l'anémie [104].

***Les transfusions:** Pour les patients HPN avec une thrombocytopénie sévère, le traitement par les concentrés plaquettaires réduit nettement la survenue de l'hémorragie. Les transfusions de concentrés globulaires demeurent indispensables en cas d'anémie importante ou mal tolérée mais le dogme de transfuser des culots globulaires décomplémentés est largement remis en question [76].

***Les androgènes:** ils semblent avoir une certaine efficacité, notamment le danazol. Ils sont néanmoins à l'origine d'un certain nombre d'effets secondaires androgéniques (et contraceptif chez la femme) qu'il ne faut pas ignorer [103].

***Les corticoïdes:** ils peuvent rendre service pour palier à l'inflammation notamment au moment des crises hémolytiques et douleur abdominale aiguë [103].

***Les antalgiques et antispasmodiques:** des antalgiques simples associés ou non à des antispasmodiques peuvent être utilisé provisoirement pour les douleurs abdominales pour soulager le patient. La morphine sera utilisée en cas de douleur intense avec plusieurs précautions d'usage [101].

Le vécu des patients au quotidien

Dès l'apparition des premiers symptômes, la vie de certains patients est bouleversée. Le quotidien de ces patients est régi par l'intensité et la fréquence des crises douloureuses abdominales, des nausées et vomissements parfois très fréquents et désagréables, ou encore des maux de tête, des hospitalisations... les plaintes des patients les plus fréquentes sur leur vécu au quotidien portent sur différents symptômes :

- une fatigue physique intense avec perte d'énergie rendant toutes les activités du quotidien difficiles, voire impossibles, qu'il s'agisse par exemple de monter les escaliers, faire les courses, s'occuper des enfants, aller au travail. . .

- des douleurs abdominales aiguës survenant par crises, de fréquence et d'intensité variables, en coups de couteau ou en lames de rasoir, et empêchant toute activité.

La difficulté du vécu de cette maladie par les patients tient au fait que la maladie ne se voit pas, ainsi, les patients se heurtent parfois à l'incompréhension de leur milieu familial et professionnel, parfois aussi de leur médecin, qui ne perçoivent pas l'intensité des douleurs et/ou de la fatigue et/ou des autres troubles et ne comprennent pas ou n'admettent pas les plaintes, les arrêts de travail répétés, et la réduction d'activité [1].

Evolution naturelle et pronostic

Le problème majeur qui vient grever l'évolution des patients atteints d'HPN sont les thromboses. La complication thrombose est associée à un mauvais pronostic.

La première cause de mortalité reste cet événement thrombotique, quelle que soit la forme de la maladie et qui peut survenir à n'importe quel moment au cours de l'histoire naturelle de l'HPN.

Les facteurs affectant de manière indépendante la survie des patients sont la période diagnostique, l'âge, l'anémie et la neutropénie au diagnostic, le fait de ne pas être traité dans la première année et la survenue de complications comme l'aplasie médullaire, les hémopathies malignes et surtout les complications thrombotiques [1].

La forme classique est grevée d'un moins bon pronostic. La survie médiane des formes aplasique est passée de 7 à 22 ans, avant même l'introduction de l'éculizumab, grâce au support transfusionnel, à la prise en charge des infections, des thromboses et grâce au traitement immunosuppresseur et sérum antilymphocytaire.

Les complications infectieuses surviennent chez 15% des patients (infections récurrentes de la sphère ORL et pulmonaires, en particulier), complications méconnues et sous-estimées des patients atteints d'HPN.

La probabilité de développer une pancytopenie durant l'évolution est estimée à 20% à dix ans.

La thrombose est le premier facteur de risque de décès avec un risque relatif (RR) de 15,4. Dans la cohorte française de 460 patients [3], l'incidence

cumulée des thromboses à dix ans est de 30,7% (37,9% dans la forme classique, 27,8% dans la forme aplasique, 27,3% dans les formes intermédiaires) 21 % des patients sont décédés, parmi lesquels 24% d'un syndrome de Budd-Chiari et 24% d'une complication vasculaire du système nerveux central. Dans la cohorte anglaise de 163 patients [88] l'incidence de thrombose est de 23 % [1]. Le risque de décès est maximal pour les localisations des thromboses suivantes: artères coronaires, veines mésentériques, embolie pulmonaire, veines sus-hépatiques, veines du système nerveux central, veines cérébrales.

L'histoire naturelle de la maladie varie selon l'origine ethnique : les Européens et les Américains sont plus sujets aux thromboses, les Hispaniques et les Asiatiques sont plus sujets à l'aplasie [84].

Au cours de la grossesse, le risque de thrombose est accru et met en péril le pronostic tant maternel que foetal, [88,76].

Conclusion

L'HPN reste une maladie rare qui doit être évoquée devant une anémie hémolytique inexplicée, ce d'autant plus que le patient présente une des deux complications majeures de la maladie, à savoir un événement thrombotique ou une aplasie médullaire. Le diagnostic ne pose guère de problème depuis les progrès de la cytométrie en flux. La physiopathologie de la maladie est maintenant bien connue, ayant permis non seulement de comprendre les signes cliniques de l'HPN mais aussi et surtout de créer un anticorps monoclonal (éculizumab) dirigé contre le complément, extrêmement efficace sur l'hémolyse. Sur le plan thérapeutique, la forme classique de la maladie a bénéficié de l'avènement de l'éculizumab. La forme aplasique est une indication d'allogreffe en cas de donneur géno-identique ou de traitement immunosuppresseur en l'absence de donneur. Les complications thrombotiques répétées, restent, même à l'heure actuelle, des facteurs affectant la survie des patients.

Résumé

Titre : Hémoglobinurie paroxystique nocturne

Mots clé : Hémoglobinurie paroxystique nocturne, Gène et protéines GPI, CD55, CD59, hyper hémolyse.

Rapporteur : MASRAR Azlarab

Auteur : BOULKAM Fatima

L'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN) ou maladie de Marchiafava-Micheli est une maladie rare de la cellule souche hématopoïétique. Les cellules HPN sont dépourvues d'un ensemble de protéines de membrane, dont le caractère commun est l'ancre glycosylphosphatidylinositol ou GPI. Ce déficit sera désigné comme anomalie HPN ou phénotype HPN. Les études moléculaires ont permis de localiser le blocage métabolique des cellules HPN à une étape précoce de la biosynthèse de l'ancre glycolipidique. Ce blocage est dû à l'absence d'une protéine, appelée PIG-A, codée par un gène PIG-A lié au chromosome X. le gène PIG-A montre des mutations somatiques inactivant ou entravant la fonction de la protéine PIG-A. On note au cours de l'évolution de l'HPN une insuffisance médullaire ainsi que des épisodes thromboemboliques.

Les progrès de la cytométrie en flux l'outil diagnostique de référence mettant en évidence le déficit des molécules GPI ancrées. Sur le plan nosographique, on oppose l'HPN classique, très hémolytique, à la forme aplasique ou syndrome aplasie-HPN. Le facteur pronostique majeur de l'HPN reste la survenue de complications thromboemboliques, de localisations souvent atypiques et constituant la cause de morbidité et de mortalité la plus importante.

Abstract

Title: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

Keywords: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Protein and gene *PIG-A, CD55, CD59, hyperhymolysis*

Reporter: MASRAR Azlarab

Author: BOULKAM Fatima

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) or Marchiafava-Micheli disease is a rare disease of the haematopoietic stem cell. PNH cells are devoid of a set of membrane proteins, whose common characteristic is the anchor glycosylphosphatidylinositol or GPI. This deficit will be designated as abnormal PNH or PNH phenotype. Molecular studies have located the metabolic block of PNH cells at an early step in the biosynthesis of the glycolipid anchor. This block is due to the absence of a protein, called PIG-A, encoded by a gene PIG-A linked to the X chromosome, PIG-A gene shows somatic mutations inactivate or impair the function of the protein PIG-A. There is also often a bone marrow disease and thromboembolic episodes.

Advances in flow cytometry are the gold standard diagnostic tool highlighting the lack of GPI anchored proteins. On the nosographical, we oppose the classical PNH, very haemolytic, shape aplastic form or aplastic-PNH syndrome. The major prognostic factor of PNH is the occurrence of thromboembolic complications of atypical locations and often constitute the most important cause of morbidity and mortality.

ملخص

العنوان: البيلة الليلية الإنتيابية الهيموكلوبينية جرد للمراجع

الكلمات الأساسية: البيلة الليلية الإنتيابية الهيموكلوبينية - الجين و البروتين **GPI** - حل دم شديد **CD55-CD59**.

المقرر: الأستاذ عز العرب مسرار

من طرف: فاطمة بولقم

البيلة الليلية الإنتيابية الهيموكلوبينية (**HPN**) أو مرض مارشيا فافا ميخائيلي مرض نادر

يصيب الخلية الجذعية الدموية وتفقد هذه الخلية **HPN** مجموعة من البروتينات الغشائية التي لها

سمة مشتركة وهي المثبت غليكوزيل فوسفاتيديل إينوزيتول أو **GPI**

فقدان هذا المثبت يسمى بالطفرة **HPN** أو النمط الظاهري **HPN**. وتبين الدراسات الجزيئية

ان التوقف في الأيظ للخلايا **HPN** يتم في مرحلة مبكرة من التركيب الحيوي للمثبت الكليكوليبيدي

هذا التوقف في التركيب الحيوي راجع لغياب بروتين يسمى **PIG-A** وهو مرتبط بالجين

PIG-A الذي على مستوى الكروموزوم **X**، يصاب هذا الجين بطفرة جسمية تعطل او تضعف

وظيفة البروتينات. وخلال هذا المرض تظهر بعض الأعراض كالإسداد التجلطي وتلف النخاع

العظمي.

تطور تقنية السيئوميترى دوفلي يجعلها اداة ذهبية لسليط الضوء على هذا النوع من

البروتينات.

ويوجد نوعين من **HPN** : الكلاسيكية وهي تسبب انحلالا شديدا للكريات الحمراء،

واللتسجي . ومن اهم عوامل الإعتلال و الوفيات هو حدوث مضاعفات الإسداد التجلطي في مواقع

غير نمطية.

REFERENCES

[1]-**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; 112:3099–106.

[2]-**Hill A, Platts PJ, Smith A, Richards SJ, Cullen MJ, Hill QA, et al.** The incidence and prevalence of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and survival of patients in Yorkshire. *Blood* 2006; 108:985.

[3]-**Hijmans van den Bergh AH.** Ictère hémolytique avec crises hémoglobinuriques. *Rev Med* 1911; 31: 63-9.

[4]-**Strubing P.** Paroxysmale haemoglobinurie. *Dtsch Med Wochenschr* 1882; 8:1–3.

[5]-**Enneking J.** Eine neue form intermittierender haemoglobinurie (haemoglobinuria paroxysmalis nocturia). *Klin Wochenschr* 1928;7:2045.

[6]-**Daniel E. Dunn, Russell E. Ware, Charles J. Parker, Helena O. Mishoe and Neal S. Young ,v** Research directions in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Trends immunology today* april 1999. 168 vol .20 no .4

[7]-**Dacie JV.** Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Proc R Soc Med* 1963;56:587–96.

[8]-**Motowo Tomita .** *Biochimica et Biophysica Acta* 1455 Review Biochemical background of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (1999) 269^286 .

[9]-**J.V. Auditore, R.C. Hartmann, J.M. Flexner, O.J. Balchum, Am. J. Med.** 27 (1960) 401^410.

[10]-**S.M. Lewis, J.V. Dacie, Br. J. Haematol.** 11 (1965) 549^556.

[11]-**H. Ikezawa, M. Yamaguchi, T. Taguchi, T. Miyashita, T. Ohyabu,** *Biochim. Biophys. Acta* 450 (1976) 154^164.

[12]-**M.G. Low, J.B. Finean, Biochem. J.** 167 (1977) 281^284.

[13]-**A. Nicholson-Weller, J. Burge, D.T. Fearon, P.F. Weller, J.** Immunol. 129 (1982) 184[^]189.

[14]-**M.K. Pangburn, R.D. Schreiber, H.J. Mueller-Eberhard,** Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80 (1983) 5430[^]5434.

[15]-**A. Nicholson-Weller, D.B. Spicer, K.F. Austen,** N. Engl. J. Med. 312 (1983) 1091[^]1097.

[16]-**M.A. Davitz, M.G. Low, V. Nussenzweig,** J. Exp. Med. 163 (1986) 1150[^]1161

[16]-**M.A. Davitz, M.G. Low, V. Nussenzweig,** J. Exp. Med. 163 (1986) 1150[^]1161.

[17]-**E.M. Medof, E.I. Walter, W.L. Roberts, R. Haas, T.L. Rosenberry,** Biochemistry 25 (1986) 6740[^]6747.

[18]-**Rosse W. A brief history of PNH. In: Young NS, Moss J, editors.** PNH and the GPI-linked proteins. San Diego: Academic Press; 2000. p. 1–20.

[19]-**Issaragrisil S.** Epidemiology of aplastic anemia in Thailand. Thailand aplastic anemia study group. Int J Hematol 1999;70:137–40.

[20]-**M. Bey et al.** Archives de Pédiatrie 2008; 15: p923-p1019.

[21]-**Cadwell V.** hemoglobinurie paroxystique nocturne. Revue du praticien 1993; 43: 11.

[22]-**Hill A, Richards SJ, Hillmen P.** Recent developments in the understanding and management of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. Br J Haematol 2007;137:181–92.

[23]-**M.J. Walport,** Complement. First of two parts, N. Engl. J. Med. 344 (2001) 1058.

[24]-**W.C. Song, M.R. Sarrias, J.D. Lambris,** Complement and innate immunity, Immunopharmacology 49 (2000) 187.

[25]-**Peffault de Latour R, et al.** L'hémoglobinurie paroxystique nocturne. *Rev Med Interne* (2009), doi:10.1016/j.revmed 2008. 12 .020.

[26]-**C.J. Parker.** The pathophysiology of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Experimental Hematology* 35 (2007) 523–533 .

[27]-**David D. Kim, Wen-Chao Song .** Short Analytical Review. Membrane complement regulatory proteins. *Clinical Immunology* 118 (2006) 127 – 136 .

[28]-**T.E. Mollnes, W.C. Song, J.D. Lambris,** Complement in inflammatory tissue damage and disease, *Trends Immunol.* 23 (2002) 61.

[29]-**T. Miwa, W.C. Song,** Membrane complement regulatory proteins: insight from animal studies and relevance to human diseases, *Int. Immunopharmacol.* 1 (2001) 445.

[30]-**Almeida, A.M., Murakami, Y., Layton, D.M., Hillmen, P., Sellick, G.S., Maeda, Y., Richards, S., Patterson, S., Kotsianidis, I., Mollica, L., Crawford, D.H., Baker, A., et al.** (2006). Hypomorphic promoter mutation in PIGM causes inherited glycosylphosphatidylinositol deficiency. *Nat Med* 12:846–851.

[31]-**Orlean, P., and Menon, A.K.** (2007). Thematic review series: lipid post-translational modifications. GPI anchoring of protein in yeast and mammalian cells, or: how we learned to stop worrying and love glycopospholipids. *J Lipid Res* 48:993–1011.

[32]-**Ferguson, M.A., Kinoshita, T., and Hart, G.W.** (2009). Glycosyl phosphatidylinositol anchors. In *Essentials of Glycobiology*, A.Varki, R.D. Cummings, J.D. Esko, H.H. Freeze, P. Stanley, C.R. Bertozzi, G.W. Hart and M.E. Etzler, (eds.), pp. 143–161. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.

[33]-**Kinoshita, T., Fujita, M., and Maeda, Y.** (2008). Biosynthesis, remodelling and functions of mammalian GPI-anchored proteins: recent progress. *J Biochem* 144:287–294.

[34]-**Fujita, M., and Jigami, Y.** (2008). Lipid remodeling of GPI-anchored proteins and its function. *Biochim Biophys Acta* 1780:410–420

[35]-**Varki, A., and Sharon, N.** (2009). Historical background and overview. In *Essentials of Glycobiology*, A. Varki, R.D. Cummings, J.D. Esko, H.H. Freeze, P. Stanley, C.R. Bertozzi, G.W. Hart and M.E. Etzler, (eds.), pp. 1–22. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.

[36]-**Watanabe, R., Murakami, Y., Marmor, M.D., Inoue, N., Maeda, Y., Hino, J., Kangawa, K., Julius, M., and Kinoshita, T.** (2000). Initial enzyme for glycosylphosphatidylinositol biosynthesis requires PIG-P and is regulated by DPM2. *EMBO J* 19:4402–4411.

[37]-**Kostova, Z., Rancour, D.M., Menon, A.K., and Orlean, P.** (2000). Photoaffinity labeling with P3-(4-azidoanilido)uridine 50-triphosphate identifies Gpi3p as the UDP-GlcNAc binding subunit of the enzyme that catalyses formation of GlcNAc-phosphatidylinositol, the first glycolipid intermediate in glycosylphosphatidylinositol synthesis. *Biochem J* 350:815–822.

[38]-**Watanabe, R., Ohishi, K., Maeda, Y., Nakamura, N., and Kinoshita, T.** (1999). Mammalian PIG-L and its yeast homologue Gpi12p are N-acetylglucosaminylphosphatidylinositol de-N-acetylases essential in glycosylphosphatidylinositol biosynthesis. *Biochem J* 339:185–192.

[39]-**Murakami, Y., Siripanyapinyo, U., Hong, Y., Kang, J.Y., Ishihara, S., Nakakuma, H., Maeda, Y., and Kinoshita, T.** (2003). PIG-W is critical for inositol acylation but not for flipping of glycosylphosphatidylinositol-anchor. *Mol Biol Cell* 14:4285–4295.

[40]-**Kajiwara, K., Watanabe, R., Pichler, H., Ihara, K., Murakami, S., Riezman, H., and Funato, K.** (2008). Yeast ARV1 is required for efficient delivery of an early GPI intermediate to the first mannosyltransferase during GPI assembly and controls lipid flow from the endoplasmic reticulum. *Mol Biol Cell* 19:2069–2082.

[41]-**Vishwakarma, R.A., and Menon, A.K.** (2005). Flip-flop of Glycosyl phosphatidylinositols(GPI's) across the ER. *Chem Commun (Camb)* 453–455.

- [42]-**Kang, J.Y., Hong, Y., Ashida, H., Shishioh, N., Murakami, Y., Morita, Y.S., Maeda, Y., and Kinoshita, T.** (2005). PIG-V involved in transferring the second mannose in glycosylphosphatidylinositol. *J Biol Chem* 280:9489–9497.
- [43]-**Coutinho, P.M., Deleury, E., Davies, G.J., and Henrissat, B.** (2003). An evolving hierarchical family classification for glycosyltransferases. *J Mol Biol* 328:307–317.
- [44]-**Maeda, Y., Watanabe, R., Harris, C.L., Hong, Y., Ohishi, K., Kinoshita, K., and Kinoshita, T.** (2001). PIG-M transfers the first mannose to glycosylphosphatidylinositol on the luminal side of the ER. *EMBO J.* 20:250–261.
- [45]-**Ashida, H., Hong, Y., Murakami, Y., Shishioh, N., Sugimoto, N., Kim, Y.U., Maeda, Y., and Kinoshita, T.** (2005). Mammalian PIG-X and yeast Pbn1p are the essential components of glycosylphosphatidylinositol-mannosyl transferase I. *Mol Biol Cell* 16:1439–1448.
- [46]-**Hong, Y., Maeda, Y., Watanabe, R., Ohishi, K., Mishkind, M., Riezman, H., and Kinoshita, T.** (1999). Pig-n, a mammalian homologue of yeast Mcd4p, is involved in transferring phosphoethanolamine to the first mannose of the glycosylphosphatidylinositol. *J Biol Chem* 274:35099–35106.
- [47]-**Takahashi, M., Inoue, N., Ohishi, K., Maeda, Y., Nakamura, N., Endo, Y., Fujita, T., Takeda, J., and Kinoshita, T.** (1996). PIG-B, a membrane protein of the endoplasmic reticulum with a large luminal domain, is involved in transferring the third mannose of the GPI anchor. *EMBO J.* 15:4254–4261.
- [48]-**Hong, Y., Maeda, Y., Watanabe, R., Inoue, N., Ohishi, K., and Kinoshita, T.** (2000). Requirement of PIG-F and PIG-O for transferring phosphoethanolamine to the third mannose in glycosylphosphatidylinositol. *J Biol Chem* 275:20911–20919.
- [49]-**Inoue, N., Kinoshita, T., Orii, T., and Takeda, J.** (1993). Cloning of a human gene, PIG-F, a component of glycosylphosphatidylinositol anchor biosynthesis, by a novel expression cloning strategy. *J Biol Chem* 268:6882–6885.

[50]-**Shishioh, N., Hong, Y., Ohishi, K., Ashida, H., Maeda, Y., and Kinoshita, T.** (2005). GPI7 is the second partner of PIG-F and involved in modification of glycosylphosphatidylinositol. *J Biol Chem* 280:9728–9734.

[51]-**Taron, B.W., Colussi, P.A., Wiedman, J.M., Orlean, P., and Taron, C.H.** (2004). Human Smp3p adds a fourth mannose to yeast and human glycosylphosphatidylinositol precursors in vivo. *J Biol Chem* 279:36083–36092.

[52]-**Ohishi, K., Inoue, N., Maeda, Y., Takeda, J., Riezman, H., and Kinoshita, T.** (2000). Gaa1p and gpi8p are components of a glycosyl phosphatidyl inositol (GPI) transamidase that mediates attachment of GPI to proteins. *Mol Biol Cell* 11:1523–1533.

[53]-**Ohishi, K., Inoue, N., and Kinoshita, T.** (2001). PIG-S and PIG-T, essential for GPI anchor attachment to proteins, form a complex with GAA1 and GPI8. *EMBO J* 20:4088–4098.

[54]-**Hong, Y., K., Kang, J.Y., Tanaka, S., Inoue, N., Nishimura, J., Maeda, Y., and Kinoshita, T.** (2003). Human PIG-U and yeast Cdc91p are the fifth subunit of GPI transamidase that attaches GPI-anchors to proteins. *Mol Biol Cell* 14:1780–1789.

[55]-**Meyer, U., Benghezal, M., Imhof, I., and Conzelmann, A.** (2000). Active site determination of Gpi8p, a caspase-related enzyme required for glycosylphosphatidylinositol anchor addition to proteins. *Biochemistry* 39:3461–3471.

[56]-**Mayor, S., and Riezman, H.** (2004). Sorting GPI-anchored proteins. *Nat Rev Mol Cell Biol* 5:110–120.

[57]-**Inoue N, Izui-Sarumaru T, Murakami Y, Endo Y, Nishimura J, Kurokawa K, et al.** Molecular basis of clonal expansion of hematopoiesis in two patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). *Blood* 2006;108:4232–6.

[58]-**Mortazavi Y, Merk B, McIntosh J, Marsh JC, Schrezenmeier H, Rutherford TR.** The spectrum of PIG-A gene mutations in aplastic anemia/paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (AA/PNH): a high incidence of multiple mutations and evidence of a mutational hot spot. *Blood*. 2003;101:2833–2841.

[59]-**Parker CJ.** Historical aspects of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: defining the disease. *Br J Haematol*. 2002;117:3–22.

[60]-**Richards SJ, Cullen MJ, Dickinson AJ, Hall C, Hill A, Hillmen P.** Evolution of GPI-deficient clones predicts clinical course in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2004;104:53a.

[61]-**Nishimura Ji J, Hirota T, Kanakura Y, et al.** Long-term support of hematopoiesis by a single stem cell clone in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2002;99:2748–2751.

[62]-**Hu R, Mukhina GL, Piantadosi S, Barber JP, Jones RJ, Brodsky RA.** PIGA mutations in normal hematopoiesis. *Blood*. 2005;105:3848–3854.

[63]-**Murakami Y, Kosaka H, Maeda Y, et al.** Inefficient response of T lymphocytes to glycosylphosphatidylinositol anchor-negative cells: implications for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2002;100: 4116–4122.

[64]-**Hanaoka N, Kawaguchi T, Horikawa K, et al.** Decrease in sensitivity of PIG-A mutant cells to natural killer cells conferred by missing of stress-inducible membrane proteins ULBPs. *Blood*. 2004;104:774a.

[65]-**Araten DJ, Swirsky D, Karadimitris A, et al.** Cytogenetic and morphological abnormalities in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol*. 2001;115:360–368.

[66]-**Nakao S, Wang H, Chuhjo T.** Clinical significance of increased PNHtype cells in the peripheral blood of patients with aplastic anemia and refractory anemia. In: *Omine M, Kinoshita T, eds. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders: molecular aspects of pathogenesis.* Tokyo: Springer; 2003. p. 129–138.

[67]-**Wang H, Chuhjo T, Yasue S, Omine M, Nakao S.** Clinical significance of a minor population of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria–type cells in bone marrow failure syndrome. *Blood.* 2002;100:3897–3902.

[68]-**Dunn DE, Liu JM, Young NS.** Bone marrow failure in PNH. In: *Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria and the Glycosylphosphatidylinositol-Linked Proteins.* San Diego: Academic Press; 2000. p. 113.

[69]-**Endo M, Beatty PG, Vreeke TM, Wittwer CT, Singh SP, Parker CJ.** Syngeneic bone marrow transplantation without conditioning in a patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: in vivo evidence that the mutant stem cells have a survival advantage. *Blood.* ;88:742–750.

[70]-**Karadimitris A, Manavalan JS, Thaler HT, et al.** Abnormal T-cell repertoire is consistent with immune process underlying the pathogenesis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood.* 2000;96:2613–2620.

[71]-**Frickhofen N, Heimpel H, Kaltwasser JP, Schrezenmeier H.** Antithymocyte globulin with or without cyclosporin A: 11-year follow-up of a randomized trial comparing treatments of aplastic anemia. *Blood.* 2003;101:1236–1242.

[72]-**Ware RE, Pickens CV, DeCastro CM, Howard TA.** Circulating PIG-A mutant T lymphocytes in healthy adults and patients with bone marrow failure syndromes. *Exp Hematol.* 2001;29:1403–1409.

[73]-**Brummendorf TH, Maciejewski JP, Mak J, Young NS, Lansdorp PM.** Telomere length in leukocyte subpopulations of patients with aplastic anemia. *Blood.* 2001;97:895–900.

[74]-**Drefus.B.** hémoglobinurie paroxystique nocturne .l'hématologie de B.Drefus, Flammarion Méd Sci 1992;58:752-62.

[75]-**S. J. Richards, P .Hillmen.** Advances in the laboratory diagnosis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . *Clinical and Applied Immunology Reviews* .1 (2001) 315–330.

[76]-**C. Parker, M. Omine, S. Richards, J.I. Nishimura, M. Bessler, R. Ware, P. Hillmen, L. Luzzatto, N. Young, T. Kinoshita, W. Rosse, G. Socie,** Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, *Blood* (2005) 3699–3709.

[77]-**Wiedmer T, Hall SE , Ortel TL.** Complement-induced vesiculation and exposure of membrane prothrombinase sites in platelets of PNH. *Blood* 1993 ;82 :1192.

[78]-**Richards SJ, Rawstron AC, Hillmen P.** The Application Of Flow Cytometry To The Diagnosis Of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *Cytometry (Communications in Clinical Cytometry)* 2000;42:223–33.

[79]-**Richards SJ, Morgan GJ, Hillmen P.** Immunophenotypic Analysis of B cells in PNH: insights into the generation of circulating naive and memory B cells. *Blood* 2000;96:3522–8.

[80]-**Gladwin MT, Lancaster JR, Freeman BA, Schechter AN.** Nitric oxide's reactions with hemoglobin: a view through the SNO-storm. *Nat Med*2003;9:496–500.

[81]-**Schnog JJ, Jager EH, van der Dijs FP, Duits AJ, Moshage H, Muskiet FD, et al.** Evidence for a metabolic shift of arginine metabolism in sickle cell disease. *Ann Hematol* 2004;83:371–5.

[82]-**Carmichael FJ, Ali AC, Campbell JA, Langlois SF, Biro GP, Willan AR, et al.** A phase I study of oxidized raffinose cross-linked human hemoglobin. *Crit Care Med* 2000;28:2283–92.

[83]-**Ziakas P, Poulou LS, Rokas GI, Bartzoudis D, Voulgarelis M.** Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: sites, risks, outcome. An overview. *J Thromb Haemost* 2007;5:642–5.

[84]-**Araten D, Thaler HT, Luzzatto L.** High incidence of thrombosis in African-American and Latin-American patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Thromb Haemost* 2005;93:88–91.

[85]-**MD Marra, MD Crema, M Raynal, E Bridel, JM Tubiana et L Arrivé.** Syndrome de Budd-Chiari compliquant une hémoglobinurie paroxystique nocturne. *J Radiol* 2008;89:594-5

[86]-**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.

[87]-**Piccin A, Murphy WG, Smith OP.** Circulating microparticles: pathophysiology and clinical implications. *Blood Rev* 2007;3:157–71.

[88]-**Hall C, Richards S, Hillmen P.** Primary prophylaxis with warfarin prevents thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). *Blood* 2003;102:3587–91.

[89]-**Maxwell M, Richard lee G.** Hémoglobinurie paroxystique nocturne. *Hématologie cliniques* 1990; 8 ème édition , vol IP (1112 -1124).

[90]-**De Gramont A.** Hémoglobinurie paroxystique nocturne .Etude clinique et biologique de 142 patients . thèse mèd , Paris , 1982.

[91]-**A. Mooraki, B. Boroumand, F.M. Zadeh, S.H. Ahmed, B.Bastani,** *Clin. Nephrol.* 50 (1998) 255^257.

[92]-**Hillmen P.** Implication of récent insights into the pathophysiology of paroxymal nocturnal heamoglobinuria . *British journal of haematology* 2000;108;470-479.

[93]-*Revue francophone des laboratoires*, nombre 2006 ,N° 386

[94]-**P. Gane /** *Transfusion clinique et biologique* 9 (2002) 271–279

[95]-**R. Azoulay et al.** *Imagerie des thromboses portales. EMC-Radiologie* 1 (2004) 470–490.

[96]-**Rother RP, Rollins SA, Mojcik CF, Brodsky RA, Bell L.** Discovery and development of the complement inhibitor eculizumab for the treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Nat Biotechnol* 2007;11: 1256–64.

[97]-**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;355:1233–43.

[98]-**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;110:4123–8.

[99]-**Hillmen P, Hall C, Marsh JC, Elebute M, Bombara MP, Petro BE, et al.** Effect of eculizumab on hemolysis and transfusion requirements in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 2004;350:552–9.

[100]-**Brodsky RA, Young NS, Antonioli E, Risitano AM, Schrezenmeier H, Schubert J, et al.** Multicenter phase 3 study of the complement inhibitor eculizumab for the treatment of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2008;111:1840–7

[101]- Peffault de Latour R., Socié G. L'hémoglobinurie paroxystique nocturne 2007.

[102]-**Krauss JS.** Laboratory diagnosis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Ann Clin Lab Sci* 2003;33:401-6.

[103]-**Socié G, Mary JY, de Gramont A, Rio B, Leporrier M, Rose C, et al.** Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: long-term follow-up and prognostic factors. French society of haematology. *Lancet* 1996;348:573–7.

[104]-**S.J. Hinchli;s, O.B. Spiller, N.K. Rushmere, B.P. Morgan, J.** *Immunol.* 161 (1998) 5695^5703.

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*

- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humain.*

- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*

- *De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*

- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.*

جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
- الرباط -

قسم الصيدلي

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

أخسر بالثمن لا تحطيم

- أن أراقب الله في مهنتي
 - أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
 - أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
 - أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفيع.
 - أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
 - لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.
- "والله على ما أقول شهيد"

جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة

سنة: 2010

رقم: 46

البيبة الليلية الإنتيابية الهيموكلوبينية جرد للمراجع أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم: 20/05/2010

من طرف

الآنسة: بولقم فاطمة
المزادة في 1983/03/07 بتزيت

لذيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: البيبة الليلية الإنتيابية الهيموكلوبينية – CD55 – CD59 – الجين والبروتين GPI – حل دم شديد.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيدة: أمال تيمو

أستاذة في طب الأطفال

مشرف

السيد: عز العرب مسرار

أستاذ في علم الدم والبيولوجيا

السيد: عبد القادر بلمكي

أستاذ ميرز في علم الدم

السيدة: نزهة مسعودي

أستاذة مبرزة في علم الدم

أعضاء