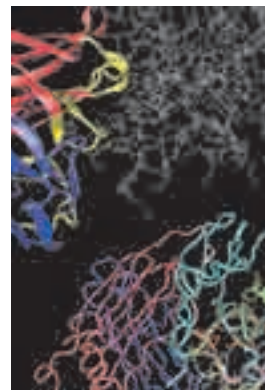


> L'hémoglobinurie paroxystique nocturne est une maladie clonale acquise rare de la cellule souche hématopoïétique, due à une mutation somatique du gène *PIG-A* et aboutissant à un déficit d'expression de deux protéines membranaires inhibitrices du complément, expliquant l'hémolyse qui domine le tableau clinique. La prise en charge thérapeutique des formes hémolytiques a été bouleversée par le développement d'un anticorps monoclonal, l'éculizumab, dirigé contre la fraction C5 du complément. ◀

Anticorps monoclonal anti-C5 (éculizumab) dans l'hémoglobinurie paroxystique nocturne

Gérard Socié, Nathalie Varoqueaux, Régis Peffault de Latour



G. Socié, R. Peffault de Latour : Service d'hématologie-greffe, Inserm U728, Hôpital Saint-Louis, AP-HP, 1, avenue Claude Vellefaux, 75010 Paris, France. gerard.socie@sls.aphp.fr
 N. Varoqueaux : Alexion Pharma France, Direction des affaires médicales, 56, avenue Hoche, 75008 Paris, France.

Caractéristiques moléculaires et cliniques de l'hémoglobinurie paroxystique nocturne

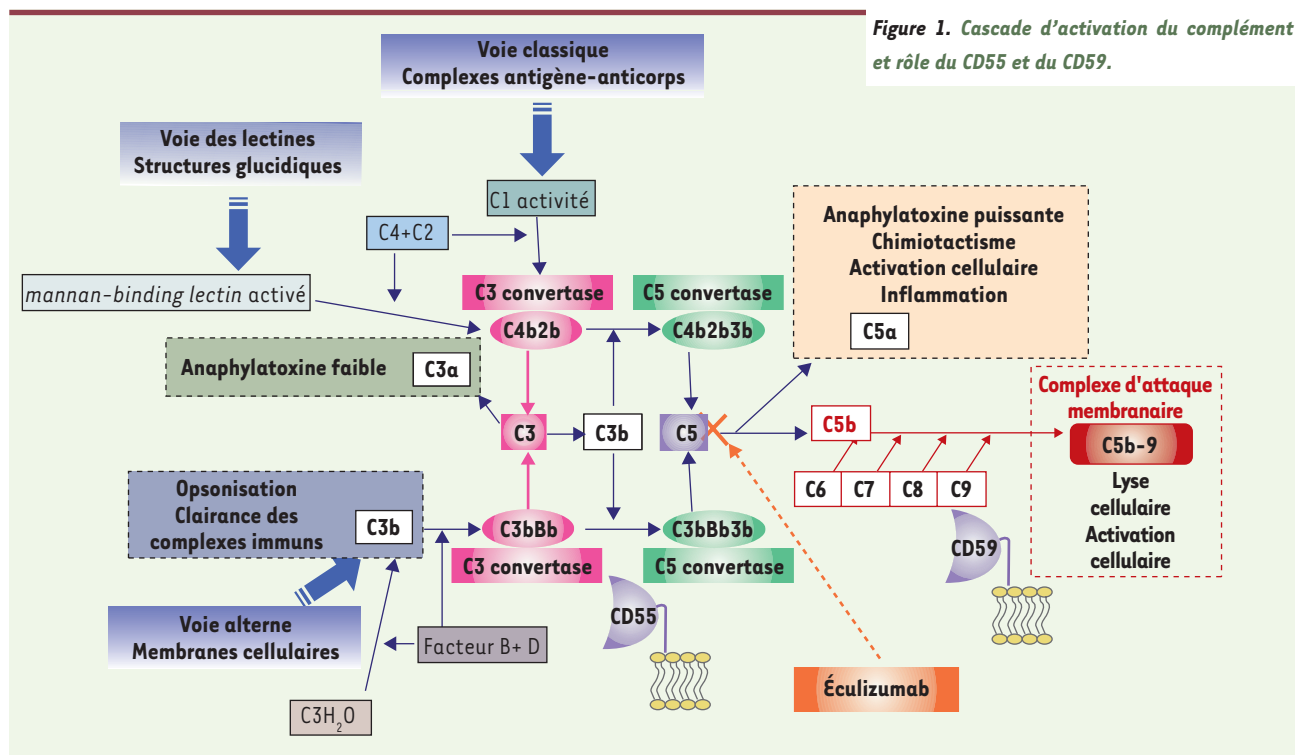
Déficit en protéines inhibitrices du complément

La sensibilité anormale des globules rouges à l'action lytique du complément est une des caractéristiques principales de l'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN). Les voies d'activation du complément sont rappelées dans la *Figure 1*. Il y a près de 30 ans, il était démontré que 2 protéines, dont le rôle est d'inhiber l'action du complément, n'étaient pas exprimées à la surface des globules rouges de patients atteints d'HPN. Ces 2 molécules - normalement insérées dans la membrane par une ancre GPI (*glycosylphosphatidylinositol*) - sont le DAF (*decay accelerating factor*) ou CD55 qui agit au niveau des C3 et C5 convertases, et le MIRL (*membrane inhibitor of reactive lysis*) ou CD59, qui agit en inhibant la formation du complexe d'attaque membranaire [1, 2]. D'autres déficits d'expression de protéines membranaires ont été identifiés et reliés au défaut de synthèse de leur système d'ancrage GPI. Le gène *PIG-A* (*phosphatidylinositol glycan anchor*) impliqué dans les premières étapes de la voie de biosynthèse de l'ancre GPI a été cloné en 1993 [3, 4]. Il est situé sur le chromosome X en p22.1. Plusieurs équipes ont démontré que des altérations moléculaires du gène *PIG-A* sont retrouvées chez tous les patients atteints d'HPN [5, 6]. Les anomalies retrouvées sont diverses, mais il s'agit dans presque tous les cas de mutations ponctuelles entraînant un décalage du cadre

de lecture [7] dont le produit de traduction est une molécule tronquée inactive.

L'HPN est caractérisée par la coexistence, chez la majorité des patients, de cellules normales et de cellules mutées (issues d'une ou quelques cellules souches, d'où la dénomination « clone HPN ») [5]. L'importance relative du « clone » HPN et de l'hématopoïèse normale est variable d'un patient à l'autre. Il a été montré que la mutation *PIG-A* était nécessaire mais non suffisante pour entraîner une HPN. Le modèle retenu propose que la population médullaire dépourvue de GPI possède un avantage de croissance (ou de survie) intrinsèque face à un mécanisme d'agression responsable d'une aplasie médullaire.

La physiopathologie de l'HPN explique en grande partie les signes cliniques de la maladie. L'hémolyse est la conséquence de l'absence de molécules GPI, en particulier du CD55 et du CD59. Cette hémolyse est responsable d'une hémoglobinémie aiguë, saturant les deux voies classiques d'élimination de l'hémoglobine libre que sont l'endocytose et la dégradation par les macrophages. L'oxyde nitrique se lie de façon irréversible à l'hémoglobine libre présente dans le plasma des patients. 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). La physiopathologie des thromboses dans l'HPN est pour l'instant méconnue mais un certain nombre d'hypothèses sont évoquées. L'accumulation de l'hémoglobine libre entraîne l'activation des cellules endothéliales, l'activation plaquettaire et, possiblement, l'inhibition de l'activité de l'enzyme ADAMTS13¹ (*a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13*). Le déficit en oxyde nitrique entraîne aussi une vasoconstriction, une inflammation et la génération de thrombine [8]. Le déficit en protéines GPI-dépendantes (surtout le CD59) à la membrane cellulaire des plaquettes, des monocytes et des cellules endothéliales est aussi responsable d'une activation directe par le complément entraînant l'exposition membranaire du facteur tissulaire et donc la génération de thrombine. L'action du complément cause aussi la formation de microvésicules ou microparticules circulantes à partir des plaquettes. Ces microparticules, riches en phospholipides, extrêmement pro-coagulantes *in vitro*, sont présentes à des fortes concentrations dans le plasma des patients avec HPN [9, 10]. D'autre part, chez les patients atteints d'HPN, la diminution de l'expression du récepteur de l'activateur du plasminogène de type urokinase (u-PAR), molécule GPI-dépendante, a été observée à la surface des monocytes, des plaquettes et des cellules endothéliales.

Aspects cliniques

Le diagnostic est de nos jours assuré par la cytométrie en flux.

La forme la plus classique, sinon la plus courante, de la maladie est celle d'une anémie hémolytique acquise d'origine corpusculaire², 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 modérées également. En pratique courante, l'HPN est diagnostiquée dans deux circonstances : celle d'une maladie hémolytique et thrombosante dite « forme classique » que l'on peut appeler l'HPN primitive ou *de novo* ou celle de la découverte d'un clone HPN chez un patient atteint d'aplasie médullaire traitée quelques mois ou années auparavant par immunosuppression. Cette présentation est plus volontiers appelée syndrome aplasie-HPN ou forme aplasique. Enfin, plus rarement, le diagnostic d'HPN a été associé à un certain nombre d'hémopathies malignes myéloïdes [11].

¹ « Cette protéase de la famille « ADAMTS » (*a disintegrin-like and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif*) agit en clivant le facteur von Willebrand (vWF), une glycoprotéine multimérique essentielle à l'adhérence et l'agrégation des plaquettes. Les mutations de cette protéine sont responsables de purpura thrombotique thrombocytopenique (PTT), une microangiopathie thrombotique rare et souvent fatale » (reproduit de *Médecine/Sciences*, 2002, n° 1, p. 15).

² Ce terme signifie que l'hémolyse a une origine intrinsèque aux globules rouges, et non pas via la fixation d'anticorps.

Approche thérapeutique par l'éculizumab, un anticorps monoclonal anti-C5

La greffe de moelle osseuse allogénique reste le seul traitement curateur de l'HPN. Les données de 67 cas isolés rapportés et de deux registres internationaux ont été analysées [12]. Les trois indications classiques de greffe dans l'HPN sont l'aplasie médullaire, les complications thrombotiques répétées et les crises hémolytiques sévères récurrentes.

Un médicament a récemment profondément modifié notre prise en charge de l'HPN : l'éculizumab. Il s'agit d'un anticorps monoclonal (Acm) inhibant le facteur C5 du complément [13]. En agissant sur C5, et donc exclusivement sur la voie effectrice terminale, les composants précoces de l'activation du complément qui sont essentiels à l'opsonisation des microorganismes et à la clairance des complexes immuns sont préservés. L'éculizumab se fixe spécifiquement et avec une forte affinité sur la fraction C5 au niveau de la région amino-terminale de sa chaîne alpha. Cette région comprend le site de clivage par les C5 convertases. En se fixant sur la région clé pour l'activité enzymatique des C5 convertases, l'éculizumab inhibe ainsi le clivage du C5 en ses deux composants C5a et C5b. L'éculizumab est une IgG dont la région constante hybride IgG2/IgG4 est composée de la région CH1 et charnière d'une IgG2 humaine fusionnée aux régions CH2 et CH3 d'une IgG4 humaine.

Les essais internationaux démontrent l'efficacité et la tolérance de l'éculizumab

L'efficacité et la tolérance de l'éculizumab ont été évaluées dans l'HPN au cours de trois essais cliniques indépendants : une phase II pilote menée chez 11 patients [14, 15] et deux essais de phase III, Triumph incluant 87 patients [16] et Shepherd 97 patients [17]. Les 195 patients inclus dans ces trois essais cliniques ont continué à bénéficier de l'éculizumab au long cours en participant à un essai d'extension non contrôlé [18]. Dans tous les essais, les patients ont été vaccinés contre le méningocoque, au moins deux semaines avant la première dose d'éculizumab.

L'essai Triumph est un essai international multicentrique avec une randomisation centralisée évaluant en double aveugle un traitement par éculizumab pendant 6 mois *versus* placebo [16]. Il est remarquable de noter que dans cette pathologie orpheline, les 87 patients de l'étude (43 traités par éculizumab ; 44 par placebo) ont été inclus en 8 mois par les 34 centres participants au niveau international. Une diminution drastique du taux moyen de LDH (lactate déshydrogénase) - reflet de l'intensité de l'hémolyse - a été observée dans la semaine qui suivait le début du traitement par éculizumab. Ce traitement a permis une réduction importante du taux d'hémoglobine libre. La stabilisation du taux d'hémoglobine en l'absence de transfusion a été obtenue chez près de 50 % des patients traités par éculizumab et chez aucun des 44 patients ayant reçu le placebo ($p < 0,001$). De manière cliniquement et statistiquement significative, les patients traités par éculizumab

sont moins fatigués (score FACIT-Fatigue³) et présentent une amélioration de leur qualité de vie (EORTC QLQ-C30 échelle⁴).

L'essai Shepherd mené sur une plus grande cohorte de patients atteints de HPN avec une présentation clinique plus polymorphe a inclus des patients thrombopéniques ou nécessitant moins de transfusions [17] et a confirmé les résultats obtenus dans l'essai Triumph. Parmi les 195 patients HPN inclus dans les trois études décrites ci-dessus, 187 patients ont participé à l'étude d'extension [18]. L'utilisation à long terme de l'éculizumab confirme une réduction dramatique de l'hémolyse. Surtout, l'évaluation des événements thrombotiques permet de démontrer une réduction de 85 % du nombre d'événements thrombotiques (7,37 événements thrombotiques pour 100 patients/année *versus* 1,07 pour 100 patients/année, $p < 0,001$).

Indications thérapeutiques

Certaines situations cliniques sont simples. La forme classique, hémolytique, sans cytopénie est une indication non discutable d'un traitement par éculizumab. La forme aplasique (syndrome aplasie HPN) doit être considérée avant tout comme une aplasie non HPN avec les conséquences thérapeutiques que cela implique (greffe géno-identique s'il existe un donneur familial, traitement immunosuppresseur en l'absence de donneur). Dans la forme aplasique, l'éculizumab pourra être discuté seulement si cette forme aplasie-HPN s'accompagne d'une hémolyse. Il reste ensuite deux questions difficiles. La première est la place de l'allogreffe dans cette maladie en cas de crises hémolytiques sévères récurrentes et/ou de thromboses récidivantes. Cette question reste une affaire de spécialiste. Enfin, la place des anticoagulants est loin d'être claire. Si la mise en place d'un traitement prophylactique par des anti-vitamines K est conseillée par nos confrères anglais lorsque la taille du clone dépasse 50 % (plus de 50 % de cellules GPI négatives), ce dernier n'est pas recommandé en France du fait du risque hémorragique. Les données récentes sur le bénéfice potentiel de l'éculizumab en termes de risque de thrombose et l'efficacité non optimale des anticoagulants en font une indication de choix chez les patients ayant des complications thrombotiques, avec là encore une discussion inévitable de l'indication d'allogreffe chez de tels malades. ♦

³ Functional assessment of chronic illness therapy.

⁴ EORTC : European organization for research and treatment of cancer.

SUMMARY

Eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria is a rare acquired clonal of the hematopoietic stem cell due to acquired mutation of the PIG-A gene. This results in the lack of two GPI-anchored membrane proteins involved in the inhibition of complement attack, thus explaining red cells hemolysis. The development of an anti-C5 monoclonal antibody (eculizumab) had profoundly modified the treatment of the the hemolytic form of the disease. ♦

CONFLIT D'INTÉRÊTS

G. Socié déclare être consultant pour les laboratoires Alexion qui commercialisent le médicament Éculizumab.

RÉFÉRENCES

- Rosse WF, Ware RE. The molecular basis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 1995 ; 86 : 3277-86.
- Rotoli B, Luzzatto L. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Baillieres Clin Haematol* 1989 ; 2 : 113-38.
- Miyata T, Takeda J, Iida Y, et al. The cloning of PIG-A, a component in the early step of GPI-anchor biosynthesis. *Science* 1993 ; 259 : 1318-20.
- Takeda J, Miyata T, Kawagoe K, et al. Deficiency of the GPI anchor caused by a somatic mutation of the PIG-A gene in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Cell* 1993 ; 73 : 703-11.
- Luzzatto L, Bessler M. The dual pathogenesis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Curr Opin Hematol* 1996 ; 3 : 101-10.
- Miyata T, Yamada N, Iida Y, et al. Abnormalities of PIG-A transcripts in granulocytes from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 1994 ; 330 : 249-55.
- Nafa K, Mason PJ, Hillmen P, et al. Mutations in the PIG-A gene causing paroxysmal nocturnal hemoglobinuria are mainly of the frameshift type. *Blood* 1995 ; 86 : 4650-5.
- 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.
- Hugel B, Socié G, Vu T, et al. Elevated levels of circulating procoagulant microparticles in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and aplastic anemia. *Blood* 1999 ; 93 : 3451-6.
- Doeuvre L, Angles-Cano E. Cell-derived microparticles unveil their fibrinolytic and proteolytic function. *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 37-44.
- De Latour RP, Mary JY, Salanoubat C, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria : natural history of disease subcategories. *Blood* 2008 ; 112 : 3099-106.
- Parker C, Omine M, Richards S, et al. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2005 ; 106 : 3699-709.
- Rother RP, Rollins SA, Mojciak CF, et al. Discovery and development of the complement inhibitor eculizumab for the treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Nat Biotechnol* 2007 ; 25 : 1256-64.
- Hillmen P, Hall C, Marsh JC, et al. Effect of eculizumab on hemolysis and transfusion requirements in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 2004 ; 350 : 552-9.
- Hill A, Hillmen P, Richards SJ, et al. Sustained response and long-term safety of eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2005 ; 106 : 2559-65.
- Hillmen P, Young NS, Schubert J, et al. The complement inhibitor eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 2006 ; 355 : 1233-43.
- Brodsky RA, Young NS, Antonioli E, 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.
- Hillmen P, Muus P, Duhren U, et al. Effect of the complement inhibitor eculizumab on thromboembolism in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2007 ; 110 : 4123-8.

TIRÉS À PART

G. Socié



Tarifs d'abonnement M/S - 2010

Abonnez-vous

à Médecine/Sciences

> Grâce à m/s, vous vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

Bulletin d'abonnement

page VI dans ce numéro de m/s

