

Παροξυστική Νυκτερινή Αιμοσφαιρινουρία

Τι είναι η PNH

- Επίκτητη αιμολυτική αναιμία που έχει τη χαρακτηριστική τριάδα
 - Ενδοαγγειακή αιμόλυση
 - Θρομβώσεις
 - Κυτταροπενίες
- Πολύ σπάνιο νόσημα (5 νέες περιπτώσεις /εκατομμύριο)
- Χρόνιο νόσημα

Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria

- **Επίκτητη αιμολυτική αναιμία** η οποία είναι το αποτέλεσμα της **κλωνικής έκπτυξης** ενός προγονικού κυττάρου το οποίο φέρει μια **επίκτητη μετάλλαξη** στο **PIGA γονίδιο** το οποίο βρίσκεται στο X χρωμόσωμα.
- Τα RBC στη PNH είναι ευαίσθητα στη λυτική δράση του συμπληρώματος σαν αποτέλεσμα της έλλειψης του CD55 και του CD59 από την επιφάνεια τους.
- Η **αιμοσφαιρινουρία** που υπάρχει στο νόσημα είναι το αποτέλεσμα της **ενδοαγγειακής αιμόλυσης** των RBCs τα οποία είναι ευαίσθητα στη λυτική δράση του συμπληρώματος
- Πολύ σπάνιο νόσημα (3-5 νέες περιπτώσεις ανά εκατομμύριο πληθυσμού ετησίως)



Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria

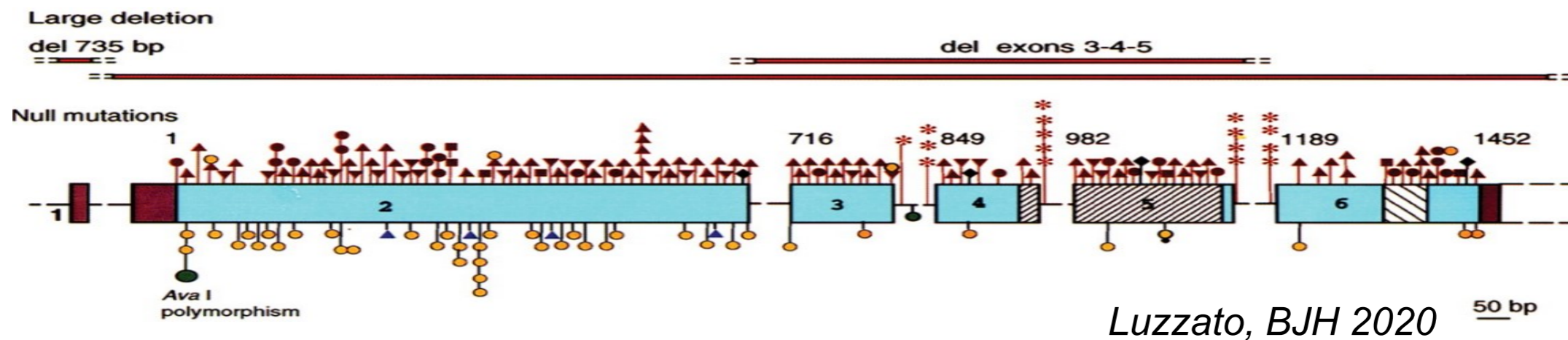
- Δεν είναι παροξυσμική
 - Υπάρχει χρόνια αιμόλυση στη PNH που αποτελεί και το πιο χαρακτηριστικό εύρημα. Οδηγεί σε διαταραχές από διάφορα συστήματα
- Δεν είναι μόνο νυχτερινή
 - Κατα τη διάρκεια της νύχτας η μείωση του ρυθμού της αναπνοής έχει σαν αποτέλεσμα πτώση του pH, με αποτέλεσμα αυξημένη ενεργοποίηση του συμπληρώματος
- Η Αιμοσφαιρινουρία δεν είναι τόσο συχνή.
 - Το 74% των ασθενων εμφανίζονται αρχικά χωρίς αιμοσφαιρινουρία

Λειτουργία του PIG-A γονιδίου

- Βρίσκεται στο X-χρωμόσωμα (Xp22.1)
- Απαραίτητο για τη σύνθεση των GPI- ομάδων (glycosylphosphatidylinositol)-πρώτο στάδιο της σύνθεσης
- Μεταλλάξεις έχουν περιγραφεί και σε υγιή άτομα, χωρίς κλινική εικόνα PNH.
- *“Escape” or “relative advantage” theory*: Πιθανά ένα δεύτερο γεγονός προάγει την έκπτυξη του GPI-αρνητικού κλώνου στο μυελό, με αποτέλεσμα τη κυκλοφορία στη περιφέρεια των ώριμων κυττάρων από το κλώνο αυτό

PIG-A mutations

- Περισσότερες από 180 μεταλλάξεις έχουν περιγραφεί στους ασθενείς με PNH, σε όλη τη κωδικοποιούμενη περιοχή του *PIGA* γονιδίου.



- Πρόσφατα έχει περιγραφεί εικόνα PNH σε ασθενή με μετάλλαξη στο *PIGT* γονίδιο (χρωμ.20)
- Το *PIGA* γονίδιο είναι απαραίτητο για τη σύνθεση των GPI ομάδων, ενώ το *PIGT* είναι απαραίτητο για τη προσκόλληση των ήδη σχηματισμένων GPI ομάδων στις διάφορες πρωτεΐνες

- *PIGA* mutations

Σημειακές μεταλλάξεις → η πρωτεΐνη έχει μικρή υπολειπόμενη δραστικότητα → χαμηλή έκφραση GPI-συνδεδεμένων πρωτεϊνών

Frame shift mutations (αλλαγή πλαισίου ανάγνωσης)
→ ανενεργή *PIGA* πρωτεΐνη → απώλεια της glycosyltransferase δραστικότητας.



❖ Όλες οι σειρές φέρουν την ίδια μετάλλαξη, → Η μετάλλαξη *PIGA* συμβαίνει σε ένα **αρχέγονο κύτταρο (early HSC)**.

T λεμφοκύτταρα και PNH



Glycosylphosphatidylinositol-specific, CD1d-restricted T cells in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

Volume 121, Issue 14, 4 April 2013, Pages 2753-2761

Lucia Gargiulo ^{1, 2}, Maria Papaioannou ¹, Michela Sica ², Giulia Talini ², Aristeidis Chaidos ¹, Barbara Richichi ³, Andrei V. Nikolaev ⁴, Cristina Nativi ³, Mark Layton ¹, Josu de la Fuente ⁵, Irene Roberts ¹, Lucio Luzzatto ⁶, Rosario Notaro ², Anastasios Karadimitris ¹,  

- Οι ασθενείς με PNH φέρουν αυτοαντιδραστικά CD1d-T λεμφοκύτταρα τα οποία πιθανά να είναι υπεύθυνα για την απλασία του μυελού
- Αυτά τα T λεμφοκύτταρα έχουν σαν στόχο τη GPI αλυσίδα, την οποία και αναγνωρίζουν μέσω του CD1d
- Τα GPI-αρνητικά HSC διαφεύγουν έτσι της επίθεσης των αυτοαντιδραστικών T λεμφοκυττάρων και έτσι πολλαπλασιάζονται και επικρατούν (escape theory).

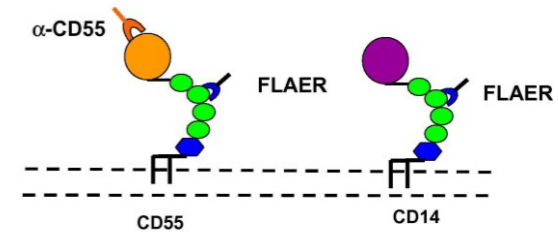
Κλινικές εκδηλώσεις PNH

- **Ενδοαγγειακή αιμόλυση** —> Αυξημένη συγκέντρωση ελεύθερης Hgb στο πλάσμα —> έλλειψη NO—> αγγειοσύσπαση, σπασμός οισοφάγου, στυτική δυσλειτουργία, κοιλιακό άλγος, καταβολή, θρόμβωση, και πιθανά συσσώρευση αιμοπεταλίων
- Αναιμία, αιμοσφαιρινουρία, κόπωση, οξεία/χρονία νεφρική ανεπάρκεια, υποτροπιάζουσες ουρολοιμώξεις, κοιλιακό άλγος, άλγος ράχης, κεφαλαλγία, σπασμός οισοφάγου, στυτική δυσλειτουργία, χολολιθίαση
- **Λόγω θρομβωσης:** Θρομβωση κοιλιακών φλεβών: Budd-Chiari, Θρόμβωση σπληνικής, μεσεντερίου, νεφρικών φλεβών, πυλαία υπέρταση, κιρσοί οισοφάγου, θρόμβωση εγκεφαλικών φλεβών: κεφαλαλγία, αιμορραγικό έμφρακτο, θρόμβωση οφθαλμικής, απώλεια όρασης, DVT, πνευμονική εμβολή, MI, ΑΕΕ
- Απλασία μυελού: Αναιμία, λοιμώξεις, αιμορραγία, μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο, οστικά άλγη

Πώς γίνεται η διάγνωση της PNH σήμερα

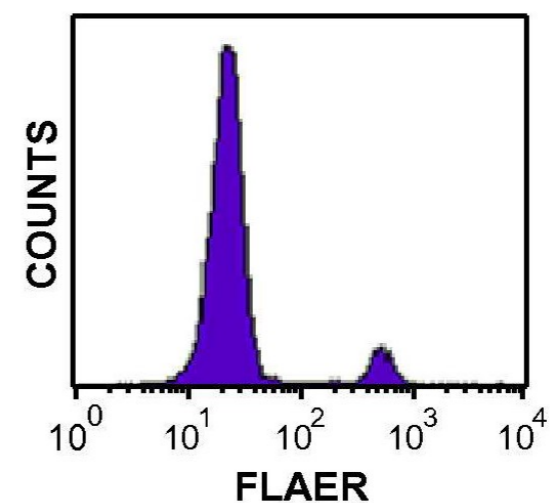
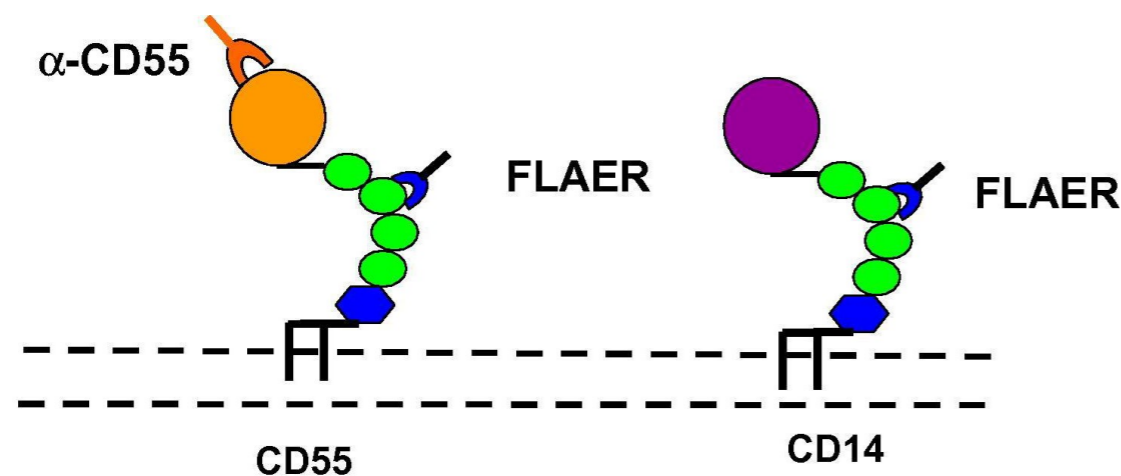
- Για τη σωστή διάγνωση θα πρέπει να γίνεται έλεγχος με **κυτταρομετρία ροής**
- Με την κυτταρομετρία ροής γίνεται ανάλυση στα ερυθρά, στα μονοκύτταρα και στα ουδετερόφιλα.
- **CD59 και CD55** στα RBCs: Χρήσιμο για να γίνει προσδιορισμός του βαθμού της έλλειψης των GPI-συνδεδεμένων πρωτεϊνών (PNH type I, type II, type III). Μειονέκτημα: ↓ ευαισθησία (**λόγω της αιμόλυσης** και των μεταγγίσεων πιθανά να **μην έχουμε το πραγματικό μέγεθος** του κλώνου)
- CD59, **CD24**, CD16, ή άλλες GPI-συνδεδεμένες πρωτεΐνες στα **ουδετερόφιλα**: Πλεονέκτημα: Η **έλλειψη τουλάχιστον δύο** αποτελεί **ευαίσθητο και ειδικό δείκτη** για τη διάγνωση της PNH. Μειονέκτημα: Μπορεί να είναι **δύσκολο** να γίνει στην **SAA** που ο αριθμός των ουδετεροφίλων είναι πολύ χαμηλός

FLAER

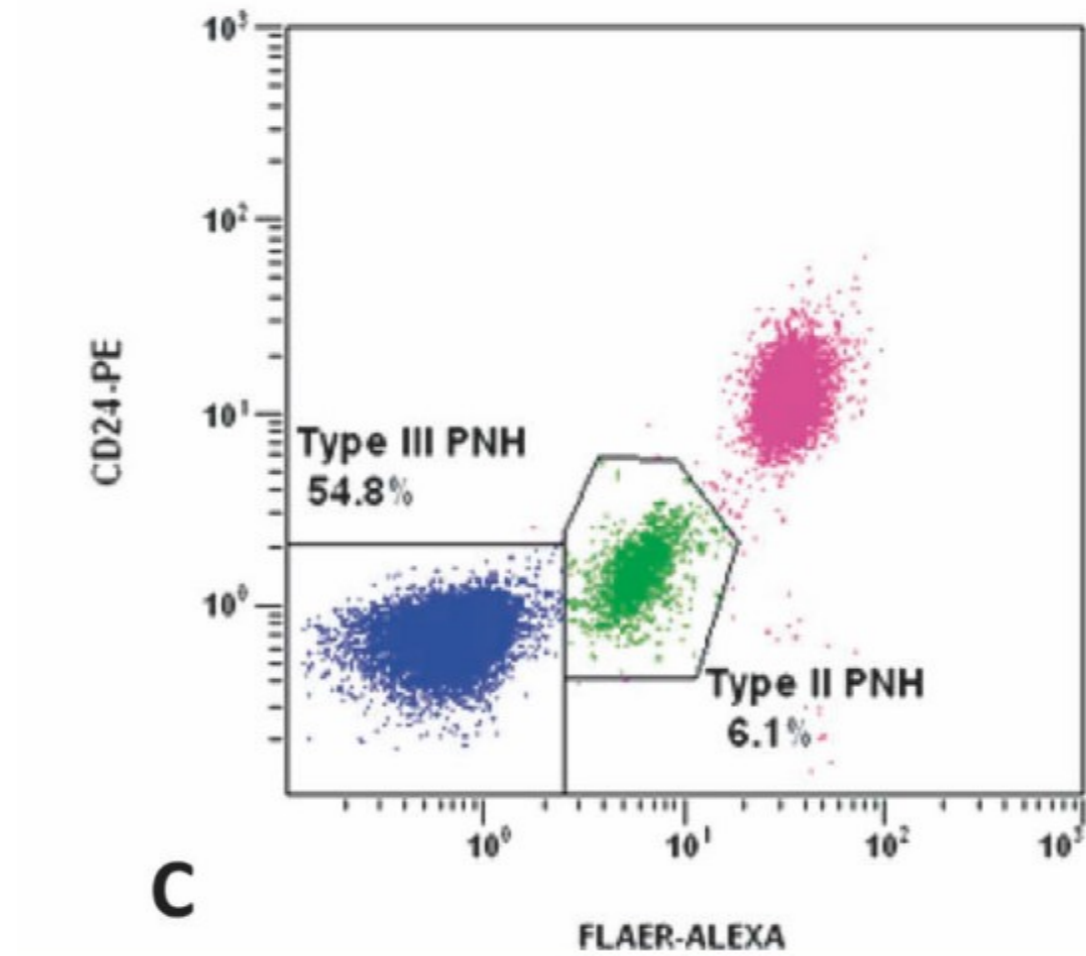


- Το FLAER (fluorescently labeled inactive toxin aerolysin) συνδέεται **ειδικά στην GPI υπομονάδα** σε **αντίθεση με τα αντισώματα** που ανιχνεύουν αν υπάρχουν ή όχι οι πρωτεΐνες αυτές.
- Η ανάλυση των **ουδετεροφίλων/μονοκύτταρων** μπορεί να δείξει το **πραγματικό μέγεθος του κλώνου** γιατί τα κύτταρα αυτά **δεν** είναι ευαίσθητα στη **λυτική δράση** του συμπληρώματος, **ούτε μεταβάλλεται ο αριθμός** τους κατά τις μεταγγίσεις.
- **Πλεονέκτημα:** Η έλλειψη σύνδεσης του FLAER στα ουδετερόφιλα είναι αρκετό για να θέσει τη διάγνωση.
- **Μειονέκτημα:** **Δεν** μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση των **RBCs ή των αιμοπεταλίων**. Μπορεί να είναι δύσκολο να γίνει στην SAA

- Τα κύτταρα στα οποία το FLAER δεν μπορεί να συνδεθεί αποτελούν τα **PNH κύτταρα - κλώνος**
- Τα λεμφοκύτταρα δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για ανάλυση λόγω της διαφορετικής έκφρασης των GPI-συνδεδεμένων πρωτεϊνών
- Το FLAER δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί στα RBCs γιατί δεν εκφράζουν τα πρωτεολυτικά ένζυμα τα οποία απαιτούνται για να γίνει η αντίδραση και να μπορέσει να συνδεθεί το FLAER



Έλεγχος ουδετεροφίλων με FLAER



Type I: φυσιολογικά κύτταρα

Type II: μερική έλλειψη

Type III: Πλήρης έλλειψη στις GPI-συνδεδεμένες πρωτεΐνες

Ποιούς ασθενείς εξετάζουμε για ΡΝΗ?

- Coombs-αρνητική αιμολυτική αναιμία
- Αιμοσφαιρινουρία
- Απλαστική αναιμία
- ΜΔΣ- δυσπλασία μίας σειράς-ανθεκτική αναιμία κυρίως σε υποπλαστικό ΜΔΣ
- Κυτταροπενίες που δεν μπορεί να τεθεί διάγνωση
- Θρομβώσεις συνήθως σε ασυνήθεις θέσεις
- Σε θρομβοπενία ή ουδετεροπενία με μακροκυττάρωση και στοιχεία αιμόλυσης
- Σε όλους τους ασθενείς με κοιλιακή θρόμβωση ή σε εγκεφαλικές φλέβες

Κατάταξη της PNH

Κλασική PNH: Κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα ενδοαγγειακής αιμόλυσης, συνήθως μυελός με φυσιολογική μορφολογία, κατά τόπους υποκυτταρικός, με υπερπλασία της ερυθράς σειράς

PNH που συνοδεύει άλλα σύνδρομα απλασίας: Απλαστική αναιμία ή ΜΔΣ με κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα ενδοαγγειακής αιμόλυσης, μυελός ως επί ΑΑ ή ΜΔΣ

Υποκλινική PNH: Μικρός PNH κλώνος, χωρίς αιμόλυση, συχνά βρίσκεται σε ασθενείς με απλασία μυελού

Θεραπευτικές επιλογές στην ΡΝΗ

- Υποστηρικτικά μέτρα (μεταγγίσεις, αντιπηκτικά...)
 - Μεταμόσχευση
 - **Eculizumab**
 - **Ravulizumab**
 - **Pegcetacoplan**
 - Κλινικές μελέτες.....
- C5 inhibitors**
- C3 inhibitor**
- Αναστολείς Συμπληρώματος**
-

Υποστηρικτικά μέτρα...

- Αρκετές φορές η διάγνωση καθυστερεί, και αρκετοί ασθενείς έχουν ανάγκη από μεταγγίσεις
- **Μεταγγίσεις** —> επιπλοκές μεταγγίσεων, **υπερφόρτωση με σίδηρο**....
- Είναι απαραίτητο να γίνεται έλεγχος της **φεριττίνης** —> Λόγω της αποβολής σιδήρου από τα ούρα αρκετές φορές οι ασθενείς είναι **σιδηροπενικοί**, αλλά αν λαμβάνουν αναστολείς συμπληρώματος αναστέλλεται η αιμοσιδηρινουρία και κάποιοι από τους ασθενείς **υπερφορτώνονται με σίδηρο**, άρα θα χρειαστούν **iron chelation tx.**

Υποστηρικτικά μέτρα...

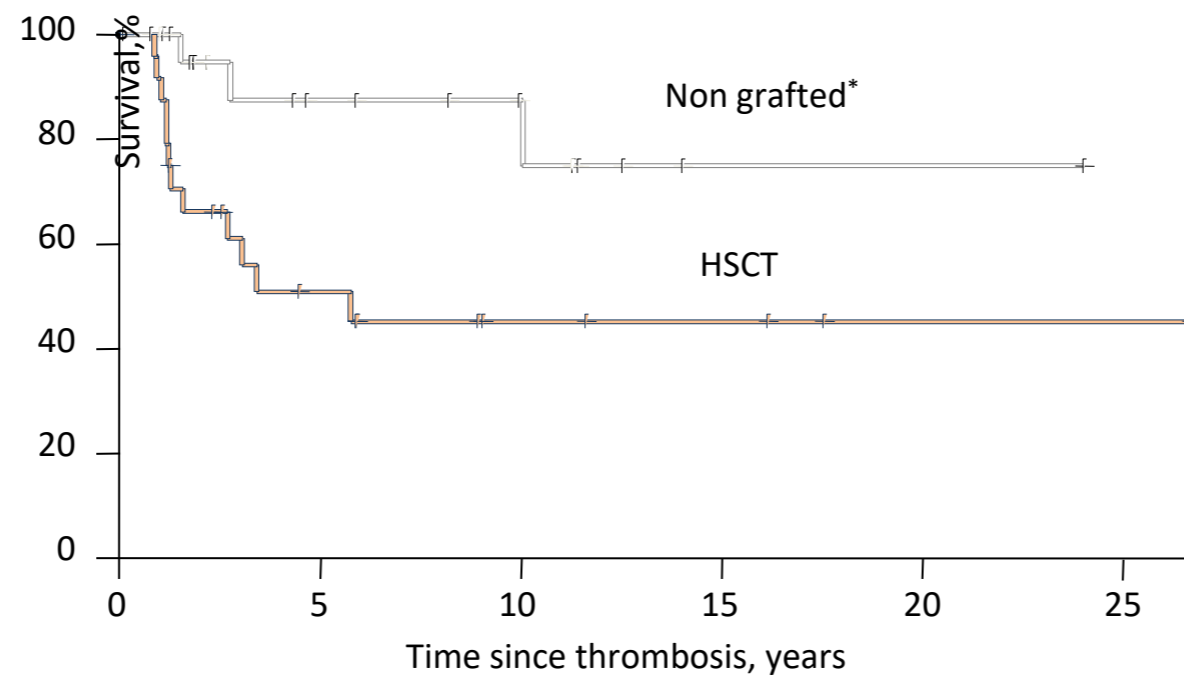
- **Σιδηροπενία:** αρκετές φορές αν ο ασθενής δεν λαμβάνει κάποια άλλη θεραπεία μπορούμε να δώσουμε σίδηρο *per os*.
- Προσοχή!!!! Η χορήγηση σιδήρου → **αύξηση στα ΔΕΚ** → τα νέα αυτά ερυθρά δυνατόν να οδηγήσουν σε εκ νέου **ενεργοποίηση** του συμπληρώματος → **αιμόλυση**
- Για αυτό το λόγο αποφεύγεται η ενδοφλέβια χορήγηση σιδήρου και προτιμάται σίδηρος *per os*.
- Κάποιοι συστήνουν να χορηγείται ο σίδηρος μαζί με κορτικοειδή για όσο το δυνατό αποφυγή αιμόλυσης
- Αντιπηκτικά → σε πολλούς ασθενείς δεν είναι αποτελεσματικά για τη πρόληψη νέων θρομβώσεων

Μεταμόσχευση και PNH

- BMT —> αποτελεί τη **μόνη θεραπεία ίασης**
- Με την έγκριση του Eculizumab και με τα αποτελέσματα που δεν είναι τόσο ενθαρρυντικά χρησιμοποιείται πλέον **σε ειδικές μόνο περιπτώσεις**.
- Τα αποτελέσματα της μεταμόσχευσης αφορούν **λίγους μόνο ασθενείς** —> Italian BM transplantation group 26 ασθενείς με μέση ηλικία κατά τη μεταμόσχευση 32 έτη (22-60 χρονών), έδειξαν ότι υπάρχει 42% TRM, 8% graft failure, και **10-ετής επιβίωση 57%** για όλους τους ασθενείς

Οι ασθενείς που είχαν κάποια **θρόμβωση** και στη συνέχεια έλαβαν μεταμόσχευση έχουν **χειρότερη επιβίωση** σε σχέση με αυτούς που δεν έλαβαν μεταμόσχευση

Καλύτερα αποτελέσματα στη κλασική μόνο με αιμόλυση PNH



Adapted from Peffault de Latour R, et al. *Haematologica* 2012;97(11):1666–1673.

Μεταμόσχευση και PNH

- Το International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR) αναφέρει 2-ετή επιβίωση στους ασθενείς αυτούς στο 56%.
- Έχουν χρησιμοποιηθεί και **nonmyeloablative conditioning** θεραπευτικά πρωτόκολλα καθώς και απλοταυτόσημες μεταμοσχεύσεις —> ~ οι **μισοί ασθενείς πεθαίνουν από επιπλοκές της μεταμόσχευσης** ενώ το οξύ και χρόνια **GVHD** αποτελεί τη **πιο συχνή επιπλοκή** για τους ασθενείς αυτούς
- Όπου είναι δυνατή άλλη θεραπευτική επιλογή —> αποφυγή μεταμόσχευσης σήμερα (?)
- Το κόστος της μεταμόσχευσης είναι το ίδιο με περίπου 4 μόνο μήνες θεραπεία με Eculizumab —> BMT —> **cost effective** όπου είναι δυνατό να γίνει

Μεταμόσχευση

- Ισως σε χώρες στις οποίες **δεν υπάρχουν αναστολείς** του συμπληρώματος, όταν **δεν υπάρχει καλή ανταπόκριση** σε αναστολείς του συμπληρώματος, ή σε ασθενείς που παρουσιάζουν βαριά **απλαστική αναιμία και μεγάλο PNH** κλώνο όταν υπάρχει συμβατός συγγενής δότης μόνο μεταμόσχευση λόγω αυξημένης θνησιμότητας
- Μεταμόσχευση —> έχει χρησιμοποιηθεί και Reduced Intensity Conditioning (RIC) με ικανοποιητικά αποτελέσματα
- Συνολική επιβίωση φτάνει ~ 54% που **δεν καθιστά τη μεταμόσχευση πλέον πρώτης γραμμής** θεραπεία

Ενδείξεις C5 αναστολέων (Eculizumab/Ravulizumab)

High disease activity (HDA)

Αιμόλυση ($LDH \geq 1.5 \times ULN$)

+

Ένα ή περισσότερα από τα πιο κάτω συμπτώματα

- Κόπωση
- Κοιλιακό άλγος
- Αιμοσφαιρινουρία
- Δύσπνοια
- Αναιμία ($Hb < 10 \text{ g/dL}$)
- Μείζων αγγειακό επεισόδιο (συμπεριλαμβανομένου θρόμβωσης)
- Δυσφαγία
- Στυτική δυσλειτουργία

Ravulizumab

- 2ης γενιάς αναστολέας C5 - τελικής οδού ενεργοποίησης του συμπληρώματος
- Μεγαλύτερος χρόνος ημιζωής → χορήγηση κάθε 8 εβδομάδες → πιο εύκολο για τους ασθενείς
- Η δράση του όσον αφορά την ασφάλεια και αποτελεσματικότητα ανάλογα με αυτά του Eculizumab
- Στατιστικά σημαντική μείωση του C5 χωρίς αυξομειώσεις όπως με το Eculizumab
- Χαμηλότερο % breakthrough αιμόλυσης σε σχέση με το Eculizumab (4% Vs 10%)
- Μπορεί να χορηγηθεί σαν πρώτη θεραπεία ή να αντικατασταθεί το Eculizumab από αυτό
- Τα αποτελέσματα σε κύηση και παιδιά είναι περιορισμένα εντούτοις φαίνεται να είναι ασφαλές (συνεχίζονται μελέτες..)

Προσοχή πρίν την έναρξη και κατά τη διάρκεια της θεραπείας με Eculizumab/Ravulizumab

- **Εμβολιασμός** για *Neisseria meningitidis* τουλάχιστον 2 εβδομάδες πριν από την έναρξη της θεραπείας, εμβολιασμός και για **πνευμονιόκοκκο** και **αιμόφιλο σε παιδιά < 18 ετών**
- Ο **εμβολιασμός** μπορεί να προκαλέσει **αύξηση της αιμόλυσης** και επιδείνωση των συμπτωμάτων → στενή παρακολούθηση των ασθενών μέχρι να αρχίσουν θεραπεία
- Ακόμα και μετά τον εμβολιασμό υπάρχει **κίνδυνος για λοίμωξη** από *Neisseria meningitidis* → στενή παρακολούθηση των ασθενών
- Αυξημένος κίνδυνος για λοιμώξεις κυρίως από encapsulated bacteria
- Στενή παρακολούθηση για θρομβώσεις, και εξωαγγειακή αιμόλυση
- Αλλεργικές αντιδράσεις ή αντιδράσεις υπερευαισθησίας κατά την έγχυση του φαρμάκου και μέχρι 48 ώρες από τη χορήγηση του

Pegcetacoplan

- Pegcetacoplan: PEGylated κυκλικό πεπτιδίο, ανάλογο compstatin
- Συνδέεται στο C3 και C3b → αναστέλλει την ενεργοποίηση του C3, και παράλληλα την επακόλουθη ενεργοποίηση του C5
- Αναστέλλει τόσο την ενδοαγγειακή αλλά και την εξωαγγειακή αιμόλυση
- Χορηγείται υποδορίως (30-60 min έγχυση) 2 φορές την εβδομάδα (Day 1-4)

Κύηση και PNH

- Κύηση και PNH —> κύηση **υψηλού κινδύνου** —> συνεργασία όλων των θεραπόντων ιατρών
- Επιδείνωση των συμπτωμάτων κατά τη διάρκεια της κύησης (αιμόλυση, ανάγκη για μεταγγίσεις, πενίες) —> χρειάζεται στενή παρακολούθηση
- Το Eculizumab **δεν αντένδύκνεται στην κύηση** και δεν φάνηκε να υπάρχει στο μητρικό γάλα
- Περίπου 50% από τις εγκυμονούσες θα χρειαστούν **μεγαλύτερη δόση ή πιο συχνή χορήγηση** του φαρμάκου
- Συνιστάται η χορήγηση **προφυλακτικής αγωγής με LMWH** καθ'όλη τη διάρκεια της κύησης και μέχρι 6 εβδ. μετά το τοκετό

Πρόληψη θρομβώσεων και PNH

- Η παρουσία **μεγάλου κλώνου** (> 50%) —> σύσταση για χορήγηση **αντιπηκτικής** αγωγής για αποφυγή θρομβώσεων
- Δεν είναι απόλυτα ξεκάθαρο πότε κάποιος πρέπει να συνεχίσει αντιπηκτικά ή αν θα τα πάρει **εφ'όρου ζωής (?)** —> θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν η **θέση** της θρόμβωσης, η **κατάσταση** του θρόμβου και αν υπάρχει **επανασηραγγοποίηση**, αν συνυπάρχουν παράγοντες που **προδιαθέτουν** για θρόμβωση.
- Σε ασθενείς με **ιστορικό θρομβωτικού επεισοδίου** συνιστάται εφ'όρου ζωής αντιπηκτική αγωγή ανεξάρτητα από τη χορήγηση eculizumab και άμεση έναρξη complement inhibitors για αποφυγή επιπλέον θρομβωτικών επεισοδίων αν δεν λαμβάνουν.
- Δεν είναι απόλυτα ξεκάθαρο με ποιο μηχανισμό το Eculizumab μειώνει τον κίνδυνο για θρομβώσεις

Συμπερασματικά...

- Η PNH αποτελεί σπάνιο νόσημα που χρειάζεται όμως **άμεση διάγνωση** και παρέμβαση
- Η μεταμόσχευση αποτελεί τη μόνη θεραπεία ίασης (σε συγκεκριμένους ασθενείς) αλλά όχι με καλά αποτελέσματα
- Υπάρχουν σήμερα εγκεκριμένες **θεραπευτικές επιλογές**, και **νέες** θεραπευτικές επιλογές που μπορούν να ελέγξουν τόσο την **ενδο-όσο** και την **εξωαγγειακή αιμόλυση** που προσφέρουν σημαντική βελτίωση της ποιότητας ζωής των ασθενών χωρίς όμως ίαση του νοσήματος
- Προσοχή να γίνεται ο απαραίτητος **εμβολιασμός** πριν την έναρξη της θεραπείας με αναστολείς συμπληρώματος
- Έλεγχος σε εξειδικευμένα κέντρα- στενή παρακολούθηση των ασθενών για αιμόλυση