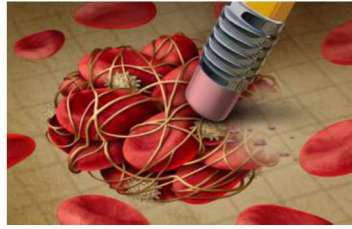




ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΘΡΟΜΒΩΣΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ



Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

"ΤΟ ΦΑΣΜΑ ΤΩΝ ΘΡΟΜΒΩΤΙΚΩΝ ΕΠΕΙΣΟΔΙΩΝ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΑΡΟΞΥΣΜΙΚΗ ΝΥΧΤΕΡΙΝΗ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΟΥΡΙΑ (ΠΝΑ): ΑΝΑΔΡΟΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ"

υπό

ΣΟΦΙΑ Λ. ΧΑΤΖΗΛΕΟΝΤΙΑΔΟΥ

Αιματολόγου

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των
απαιτήσεων για την απόκτηση του
Διπλώματος Μεταπτυχιακών Σπουδών
«Θρόμβωση και Αντιθρομβωτική Αγωγή»

Λάρισα, 2021

Επιβλέπουσα:

Μαρία Παπαϊωάννου, Καθηγήτρια Αιματολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

1. Μαρία Παπαϊωάννου, Καθηγήτρια Αιματολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης - *(Επιβλέπουσα)*
2. Σταυρούλα Τσιάρα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων
3. Μιλτιάδης Ματσάγκας, Καθηγητής Αγγειοχειρουργικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Αναπληρωματικό μέλος:

Γεώργιος Κούβελος, Επίκουρος Καθηγητής Αγγειοχειρουργικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Τίτλος εργασίας στα αγγλικά:

THE SPECTRUM OF THROMBOTIC EVENTS IN PATIENTS WITH PAROXYSMAL NOCTURNAL HEMOGLOBINURIA (PNH): A RETROSPECTIVE STUDY

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής αυτής εργασίας, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτρια κα Μαρία Παπαϊωάννου, Καθηγήτρια Αιματολογίας του Τμήματος Ιατρικής, Σχολής Επιστημών Υγείας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναθέτοντάς μου αυτή την ενδιαφέρουσα εργασία καθώς και για την εποικοδομητική συνεργασία που είχαμε και την ουσιαστική καθοδήγησή της, την ενθάρρυνση, την επιμονή και το συνολικό χρόνο που διέθεσε.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους συναδέλφους που με την καταγραφή των δεδομένων των ασθενών τους συνέβαλαν στην ολοκλήρωση της εργασίας.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στους γονείς μου για την κάθε είδους συμπαράσταση και στήριξη όλα αυτά τα χρόνια και κυρίως για την εμπιστοσύνη τους, που μου δίνει κουράγιο και δύναμη στην προσωπική και επαγγελματική μου πορεία.

Σοφία Α. Χατζηλεοντιάδου

Περίληψη

ΕΙΣΑΓΩΓΗ Η παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία (ΠΝΑ) είναι μια σπάνια, επίκτητη κλωνική διαταραχή των στελεχιαίων αιμοποιητικών κυττάρων, δυνητικά απειλητική για τη ζωή, που εκδηλώνεται με χρόνια αιμολυτική αναιμία, ανεπάρκεια του μυελού των οστών και θρόμβωση. Η διάγνωση της ΠΝΑ τεκμηριώνεται με κυτταρομετρία ροής σε τουλάχιστον δύο ή περισσότερες μορφές κυττάρων του περιφερικού αίματος. Οι κλινικές εκδηλώσεις στους ασθενείς με ΠΝΑ αφορούν πολλά συστήματα και είναι συχνά μη ειδικές. Τα θρομβοεμβολικά επεισόδια αποτελούν την πιο συχνή αιτία θανάτου στους ασθενείς με ΠΝΑ. Έχει αναφερθεί ότι 29% - 44% των ασθενών με ΠΝΑ παρουσιάζουν τουλάχιστον ένα θρομβοεμβολικό συμβάν κατά τη διάρκεια της νόσου με ποικίλη εντόπιση. Οι πιο συχνές εντοπίσεις περιλαμβάνουν τις ενδοκοιλιακές και εγκεφαλικές φλέβες. Ο μηχανισμός της θρόμβωσης στην ΠΝΑ είναι σύνθετος και συνεχίζει να επικεντρώνει ερευνητικό ενδιαφέρον.

ΜΕΘΟΔΟΙ Πρόκειται για αναδρομική μελέτη ανάλυσης δεδομένων από 34 περιπτώσεις ασθενών με ΠΝΑ. Οι ασθενείς της μελέτης προέρχονται από 9 αιματολογικά κέντρα. Στόχος της μελέτης είναι η ανάλυση των δεδομένων που αφορούν τα θρομβωτικά επεισόδια των καταγεγραμμένων ασθενών με ΠΝΑ. Όλοι οι ασθενείς, ανεξαρτήτου ηλικίας, με κλινική διάγνωση ΠΝΑ συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ Από τους 34 ασθενείς 15 ήταν γυναίκες (44%) και 19 άνδρες (56%). Η διάμεση ηλικία κατά την διάγνωση ήταν 32,5 έτη. Με κλασική μορφή ΠΝΑ διαγνώστηκαν 19 (56%) ασθενείς και 14 (42%) ασθενείς εμφάνισαν ΠΝΑ σε έδαφος άλλης πρωτοπαθούς διαταραχής του μυελού των οστών. Τα κύρια συμπτώματα των ασθενών που καταγράφηκαν ήταν αδυναμία, κοιλιακό άλγος, αιμοσφαιρινουρία, ραχιαλγία, κεφαλαλγία, δυσφαγία και στυτική δυσλειτουργία. Σπληνομεγαλία παρατηρήθηκε σε 23,5% των ασθενών ενώ η ηπατική και νεφρική δυσλειτουργία διαπιστώθηκαν σε 17,6% και 8,82% των ασθενών αντίστοιχα. Σε 91,17% των ασθενών διαπιστώθηκε αναιμία κατά τη διάγνωση, ενώ θρομβοπενία παρατηρήθηκε σε 58,8% των ασθενών. Συνολικά, 12 από τους 34 ασθενείς εμφάνισαν ένα τουλάχιστον επεισόδιο θρόμβωσης. Η επίπτωση των θρομβωτικών επεισοδίων στον πληθυσμό που μελετήθηκε ήταν 35,29%. Επτά ασθενείς (20,58%) εμφάνισαν θρομβωτικό επεισόδιο κατά τη διάγνωση και 2 (5,88%) ασθενείς εμφάνισαν επεισόδιο θρόμβωσης ενώ ήταν υπό ειδική θεραπεία για την ΠΝΑ. Όσον αφορά τις

εντοπίσεις των θρομβωτικών επεισοδίων, 4 ασθενείς εμφάνισαν σύνδρομο Budd-Chiari, 3 ασθενείς διαγνώστηκαν με θρόμβωση πυλαίας φλέβας και 2 ασθενείς εμφάνισαν θρόμβωση σε αγγεία των οφθαλμών. Επιπλέον, 2 ασθενείς εμφάνισαν επεισόδια θρόμβωσης σε πολλαπλές εντοπίσεις κατά τη διάρκεια της νόσου. Όσον αφορά τη δευτερογενή αντιπηκτική αγωγή που χορηγήθηκε στους ασθενείς μετά το θρομβωτικό επεισόδιο, αυτή ήταν ΧΜΒΗ στην πλειονότητα των ασθενών ενώ 4 ασθενείς έλαβαν ασενοκουμαρόλη μετά από μια σύντομη περίοδο αγωγής με ΧΜΒΗ. Δύο (16,66%) ασθενείς ήταν υπό θεραπεία με eculizumab τη χρονική στιγμή της θρόμβωσης ενώ 4 (33,34%) ασθενείς τέθηκαν σε θεραπεία με eculizumab μετά το επεισόδιο της θρόμβωσης.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ Η θρομβοφιλική διαταραχή που χαρακτηρίζει την ΠΝΑ αποτελεί απειλητική για τη ζωή κλινική εκδήλωση της νόσου. Τα θρομβωτικά επεισόδια εκδηλώνονται σε σημαντικό ποσοστό ασθενών με ΠΝΑ και αποτελούν την κύρια αιτία θανάτου των ασθενών αυτών.

Η τρέχουσα αντιμετώπιση με τους αναστολείς του συμπληρώματος συνέβαλε σημαντικά στη μείωση των θρομβωτικών επεισοδίων και κατ'επέκταση στην αύξηση της επιβίωσης των ασθενών. Ως εκ τούτου, η έγκαιρη διάγνωση της νόσου είναι καθοριστικής σημασίας για την έκβαση των ασθενών.

Λέξεις - Κλειδιά: Παροξυσμική Νυχτερινή Αιμοσφαιρινουρία (ΠΝΑ), θρόμβωση, αιμολυτική αναιμία, αιμοσφαιρινουρία, ορφανά νοσήματα, eculizumab

Abstract

INTRODUCTION Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is a rare, acquired clonal hematopoietic stem cell disorder, potentially life-threatening, characterized by chronic hemolytic anemia, bone marrow failure, and thrombosis. The clinical diagnosis of PNH should be confirmed by peripheral blood flow cytometry in at least two or more cell lines. Clinical manifestations in patients with PNH are often non-specific and involve many systems. Thromboembolic events are the most common cause of death in patients with PNH. It has been reported that 29% - 44% of patients with PNH have at least one thromboembolic event during the course of the disease and can occur at any site. The most common sites include the intraabdominal and cerebral veins. The mechanism of thrombosis in PNH is complex and a field of ongoing research.

METHODS This is a retrospective study of 34 clinical cases of patients with PNH. Clinical data were obtained from 9 hematology centers in Greece. The aim of the study is to analyze the data related to the thrombotic episodes of the recorded patients with PNH. All patients, of any age, with a clinical diagnosis of PNH were included in the study.

RESULTS Of the 34 patients, 15 were women (44%) and 19 men (56%). The median age at diagnosis was 32.5 years. Classical form of PNH was found in 19 (56%) patients and 14 patients (42%) were diagnosed with PNH in the context of other primary bone marrow disorders. The main signs and symptoms recorded were weakness, abdominal pain, hemoglobinuria, back pain, headache, dysphagia and erectile dysfunction. Splenomegaly was observed in 23.5% of the patients while hepatic and renal dysfunction was observed in 17.6% and 8.82% of the patients respectively. At the time of diagnosis, anemia was present in 91.17% of the patients, while thrombocytopenia was observed in 58.8% of them. A thromboembolic event was recorded in 12 out of 34 patients. The incidence of thrombotic events in the study population was 35.29%. At the time of diagnosis, seven (20.58%) patients experienced a thrombotic event, while 2 (5.88%) patients had a thrombotic episode while undergoing specific treatment for PNH. Regarding the thrombotic sites, 4 patients had Budd-Chiari syndrome, 3 patients were diagnosed with portal vein thrombosis and 2 patients had ocular thrombosis. Interestingly, 2 patients experienced thrombotic episodes at multiple sites during the course of the disease. Regarding the secondary anticoagulant therapy, this was low molecular weight heparin (LMWH) in

the majority of the patients while 4 patients received acenocoumarol after a short period of LMWH treatment. Two (16.66%) patients were under treatment with eculizumab at the time of thrombosis while in 4 (33.34%) patients this treatment was started after the thrombotic episode.

CONCLUSIONS The thrombophilic disorder that characterizes PNH is a life-threatening clinical manifestation of the disease. Thrombotic events occur in a significant percentage of patients with PNH and are the leading cause of death in these patients.

Current treatment with complement inhibitors has significantly reduced thrombotic events and consequently increased survival. Therefore, an early diagnosis of the disease is crucial.

Key words: Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH), thrombosis, hemolytic anaemia, hemoglobinuria, orphan diseases, eculizumab

Πίνακας Περιεχομένων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	4
ABSTRACT.....	6
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ ΚΑΙ ΑΚΡΩΝΥΜΙΩΝ.....	10
ΕΙΚΟΝΕΣ.....	12
ΠΙΝΑΚΕΣ.....	12
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	13
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 - ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	14
1.1 ΠΑΡΟΞΥΣΜΙΚΗ ΝΥΧΤΕΡΙΝΗ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΟΥΡΙΑ-ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ.....	15
1.2 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ.....	16
1.3 ΓΕΝΕΤΙΚΗ.....	17
1.4 ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ.....	19
1.5 ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΠΝΑ.....	24
1.6 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΠΝΑ.....	25
1.7 ΚΥΡΙΕΣ ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΠΝΑ.....	26
<i>Αναιμία.....</i>	<i>26</i>
<i>Θρόμβωση.....</i>	<i>27</i>
<i>Δυστονία λείων μυών.....</i>	<i>27</i>
<i>Αδυναμία και αιμοσφαιρινουρία.....</i>	<i>28</i>
<i>Άλλες εκδηλώσεις.....</i>	<i>28</i>
1.8 ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΠΝΑ.....	30
<i>Θεραπεία κλασικής ΠΝΑ.....</i>	<i>30</i>
<i>Θεραπεία υποκλινικής ΠΝΑ.....</i>	<i>32</i>
<i>Θεραπεία ΠΝΑ σε έδαφος άλλων πρωτοπαθών διαταραχών του μυελού των οστών.....</i>	<i>32</i>
1.9 ΘΡΟΜΒΩΣΗ ΣΤΗΝ ΠΝΑ.....	33
<i>Επίπτωση θρόμβωσης.....</i>	<i>33</i>
<i>Θέσεις θρόμβωσης.....</i>	<i>34</i>
<i>Πότε θα πρέπει να γίνεται έλεγχος για ΠΝΑ σε ασθενείς με θρόμβωση.....</i>	<i>35</i>
<i>Μηχανισμοί θρόμβωσης στην ΠΝΑ.....</i>	<i>35</i>
<i>Θεραπεία οξείας θρόμβωσης.....</i>	<i>41</i>
<i>Πρόληψη της θρόμβωσης.....</i>	<i>41</i>
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	43
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 – ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	44
2.1 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΑΝΑΔΡΟΜΙΚΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	44
2.2 ΣΤΟΧΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	44
2.3 ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΕΝΤΑΞΗΣ ΑΣΘΕΝΩΝ ΚΑΙ ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΑΠΟΚΛΕΙΣΜΟΥ.....	44
2.4 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΜΕΛΕΤΗΣ ΚΑΙ ΕΞΑΓΩΓΗΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ.....	45
2.5 ΟΡΙΣΜΟΙ.....	45
<i>Παροξυσμική Νυχτερινή Αιμοσφαιρινουρία.....</i>	<i>45</i>
<i>Φάσμα θρομβωτικών επεισοδίων στην ΠΝΑ.....</i>	<i>45</i>

<i>Σύνδρομο Budd-Chiari</i>	45
2.6 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	46
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 - ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	47
3.1 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	47
3.2 ΣΥΝΘΕΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....	52
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 - ΣΥΖΗΤΗΣΗ	60
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	63
ΣΥΝΟΨΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ	64
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	66

Ευρετήριο συντομογραφιών και ακρωνυμίων

ΑΑ	Απλαστική Αναιμία
ΑΕΕ	Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο
ΑΡ	Αριστερός
β - ΜΑ	β - Μεσογειακή Αναιμία
ΔΕ	Δεξιός
ΔΕΚ	Δικτυοερυθροκύτταρα
ΕΟΦ	Ευρωπαϊκός Οργανισμός Φαρμάκων
ΜΔ	Μη διαθέσιμο
ΜΔΣ	Μυελοδυσπλαστικό Σύνδρομο
ΠΙΝΑ	Παροξυσμική Νυχτερινή Αιμοσφαιρινουρία
ΧΜΒΗ	Χαμηλού Μοριακού Βάρους Ηπαρίνη
AMA	American Medical Association
Da	Dalton
DAF	Decay Accelerating Factor
eGFR	Estimated Glomerular Filtration Rate
FDA	Food and Drug Administration
FLAER	Fluorescently Labeled AERolysin
GPI	Glycosylphosphatidylinositol
GPI - APs	GPI - Anchored Proteins
IPIG	International PNH Interest Group
Kb	Kilobase
LDH	Lactate DeHydrogenase (Γαλακτική Δεϋδρογενάση)

LMWH	Low Molecular Weight Heparin
MAC	Membrane Attack Complex
MCV	Mean Corpuscular Volume
NO	Nitric oxide (Μονοξείδιο του αζώτου)
MIRL	Membrane Inhibitor of Reactive Lysis
PAI1	Plasminogen Activator Inhibitor 1
PIGA	Phosphatidylinositol Glycan A
PMF	Primary Myelofibrosis
PNA	Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria
PV	Polycythemia Vera
TF	Tissue Factor
TFPI	Tissue Factor Pathway Inhibitor
uPAR	urokinase Plasminogen Activator Receptor
US	United States
vWF	von Willebrand Factor

Εικόνες

Εικόνα 1: Συνοπτικό χρονοδιάγραμμα των βασικών ανακαλύψεων της ΠΝΑ.....	16
Εικόνα 2: Βιοσύνθεση γλυκολιπιδίου GPI.....	22
Εικόνα 3: Παθογένεση της ΠΝΑ	23
Εικόνα 4: Κλινικές εκδηλώσεις της ΠΝΑ.....	26
Εικόνα 5: Συνέπειες ενδοαγγειακής αιμόλυσης.....	29
Εικόνα 6: Μηχανισμοί θρόμβωσης στην ΠΝΑ.....	36
Εικόνα 7: Σημεία και συμπτώματα κατά τη διάγνωση.....	51
Εικόνα 8: Σημεία θρόμβωσης επί του συνόλου των ασθενών της μελέτης.....	54

Πίνακες

Πίνακας 1. Αίτια ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων στην ΠΝΑ.....	37
Πίνακας 2. Συνέπειες της ενδοαγγειακής αιμόλυσης στο μηχανισμό θρόμβωσης στην ΠΝΑ.....	38
Πίνακας 3. Προτεινόμενοι μηχανισμοί θρόμβωσης στην ΠΝΑ, ανεξάρτητοι από την αιμόλυση.....	40
Πίνακας 4. Δημογραφικά χαρακτηριστικά ασθενών.....	47
Πίνακας 5. Εργαστηριακά ευρήματα κατά τη διάγνωση.....	48
Πίνακας 6. Χαρακτηριστικά της νόσου - συννοσηρότητες.....	49
Πίνακας 7. Σημεία και συμπτώματα κατά τη διάγνωση.....	50
Πίνακας 8. Επεισόδια θρόμβωσης.....	53
Πίνακας 9. Χαρακτηριστικά ασθενών με θρόμβωση.....	56
Πίνακας 10.1 Χαρακτηριστικά ασθενών με ΠΝΑ και επεισόδιο θρόμβωσης.....	57
Πίνακας 10. 2 Χαρακτηριστικά ασθενών με ΠΝΑ και επεισόδιο θρόμβωσης.....	58
Πίνακας 10. 3 Χαρακτηριστικά ασθενών με ΠΝΑ και επεισόδιο θρόμβωσης.....	59

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 1 - Εισαγωγή

Η παροξυσμική νυχτερινή αιμοσφαιρινουρία (ΠΝΑ) είναι μια σπάνια, επίκτητη, κλωνική νόσος του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου, που χαρακτηρίζεται από χρόνια αιμόλυση, θρόμβωση και ανεπάρκεια μυελού των οστών.¹ Η θρόμβωση αποτελεί την πιο συχνή επιπλοκή της ΠΝΑ² και έχει αναγνωριστεί ως η κύρια αιτία θανάτου των ασθενών με ΠΝΑ, γεγονός που καθιστά την πρόληψη και την αποτελεσματική αντιμετώπισή της, ιδιαίτερης σημασίας για το νόσημα αυτό.² Ο ακριβής μηχανισμός της θρόμβωσης στην ΠΝΑ δεν έχει διευκρινιστεί αλλά φαίνεται ότι συμβάλλουν πολλοί παράγοντες. Η ενδαγγειακή αιμόλυση ως αποτέλεσμα ενεργοποίησης του συμπληρώματος και τα επακόλουθά της φαίνεται να σχετίζονται με την ενεργοποίηση του καταρράκτη της πήξης. Η θεραπευτική αντιμετώπιση της θρόμβωσης στην ΠΝΑ εκτός από την αντιπηκτική αγωγή θα πρέπει να περιλαμβάνει και ειδική θεραπεία για τη νόσο με αναστολείς του συμπληρώματος όπως το eculizumab και το ravulizumab. Η προσθήκη των αναστολέων στη θεραπεία της ΠΝΑ συνέβαλε σημαντικά στην αντιμετώπιση αλλά και την πρόληψη των θρομβωτικών επεισοδίων στους ασθενείς με ΠΝΑ.²

Η πρώτη ενότητα της εργασίας αυτής είναι θεωρητική και περιλαμβάνει την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας. Αρχικά, έγινε αναφορά στην ΠΝΑ, με ανάλυση δεδομένων γνωστών έως σήμερα, όσον αφορά την επιδημιολογία, την παθοφυσιολογία και γενετική, τη διάγνωση και τις κατηγορίες της ΠΝΑ, καθώς και τις κύριες εκδηλώσεις της νόσου και τη θεραπεία της. Στη συνέχεια, έγινε ιδιαίτερη αναφορά στη θρόμβωση της ΠΝΑ, σχετικά με την επίπτωσή της, τις κύριες θέσεις στις οποίες παρατηρείται, τους πιθανούς μηχανισμούς της και τη θεραπεία και πρόληψή της.

Η δεύτερη ενότητα πραγματεύεται το ερευνητικό μέρος της εργασίας. Αρχικά, αναφέρονται ο σχεδιασμός και ο στόχος της μελέτης. Ακολούθως, τα κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού των ασθενών που καταγράφηκαν. Ακολουθεί η μεθοδολογία μελέτης και επεξεργασίας των δεδομένων, οι ορισμοί, καθώς και η περιγραφή της στατιστικής ανάλυσης που πραγματοποιήθηκε. Τα δεδομένα των ασθενών και τα αποτελέσματα της μελέτης περιγράφονται στην τρίτη ενότητα. Το τέταρτο κεφάλαιο, αφορά τη συζήτηση με τον σχολιασμό των ευρημάτων και τη σύγκρισή τους με δεδομένα από τη διεθνή βιβλιογραφία. Επιπλέον, αναφέρονται και οι περιορισμοί της μελέτης. Στην πέμπτη ενότητα καταγράφονται τα συμπεράσματα

της μελέτης. Η εργασία ολοκληρώνεται με τη σύνοψη της μελέτης και την παράθεση της βιβλιογραφίας.

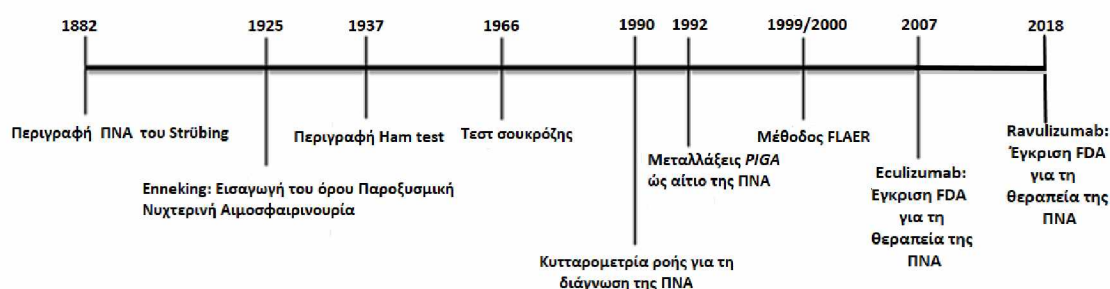
Η αναζήτηση της βιβλιογραφίας έγινε κυρίως από τη βάση δεδομένων MEDLINE. Η παράθεση των βιβλιογραφικών αναφορών και παραπομπών έγινε με το σύστημα αναφοράς της American Medical Association (AMA) 11th edition.

1.1 Παροξυσμική Νυκτερινή Αιμοσφαιρινουρία-Ιστορική Αναδρομή

Η παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία (ΠΝΑ) είναι μια σπάνια, επίκτητη, κλωνική διαταραχή των στελεχιαίων αιμοποιητικών κυττάρων, δυνητικά απειλητική για τη ζωή, που εκδηλώνεται με χρόνια αιμολυτική αναιμία, ανεπάρκεια του μυελού των οστών και θρόμβωση.³

Οι πρώτες καθοριστικές κλινικές περιγραφές της ΠΝΑ ήταν αυτές του Gull το 1866⁴ και του Strübing.⁵ Ο Δρ Paul Strübing, το 1882 περιέγραψε έναν 29χρονο άντρα που παρουσίαζε κόπωση, κοιλιακό άλγος και σοβαρούς νυκτερινούς παροξυσμούς αιμοσφαιρινουρίας.^{3,5} Ο Strübing κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η αιμόλυση ήταν ενδοαγγειακή καθώς το πλάσμα του ασθενούς γινόταν ερυθρό μετά από σοβαρά επεισόδια αιμοσφαιρινουρίας. Μεταγενέστερες αναφορές από τους Marchiafava και Micheli οδήγησαν στην επωνομασία, Σύνδρομο Marchiafava - Micheli, αλλά ήταν ο Enneking το 1925 που εισήγαγε τον όρο παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία.^{3,6} Το 1937, ο Thomas Ham ανέφερε ότι τα ερυθροκύτταρα της ΠΝΑ αιμολύθηκαν όταν επώαστηκαν με φυσιολογικό, οξινισμένο ορό.^{3,7} Αυτή η σημαντική ανακάλυψη είχε ως αποτέλεσμα την πρώτη διαγνωστική δοκιμασία για την ΠΝΑ, τη δοκιμασία οξινισμένου ορού (Ham test). Η λύση των ερυθροκυττάρων μετά από επαφή με οξινισμένο ορό φάνηκε να εξαρτάται από το συμπλήρωμα γιατί η θερμική απενεργοποίησή του ακύρωνε την αντίδραση. Ωστόσο, το 1954, με την ανακάλυψη του εναλλακτικής οδού ενεργοποίησης του συμπληρώματος, αποδείχθηκε επίσημα ότι το συμπλήρωμα προκαλεί την αιμόλυση των ΠΝΑ ερυθροκυττάρων.³ Στη δεκαετία του 1980, ανακαλύφθηκε ότι τα ΠΝΑ κύτταρα εμφανίζουν ανεπάρκεια σε μια ομάδα πρωτεϊνών που προσκολλώνται στην κυτταρική επιφάνεια με τη βοήθεια μιάς άγκυρας γλυκοζυλφωσφατιδυλινοζιτόλης (GPI). Δύο από τις GPI συνδεδεμένες πρωτεΐνες που λείπουν (CD55 και CD59) δρουν ρυθμιστικά (ανασταλτικά) στην ενεργοποίηση του συμπληρώματος.³ Λίγα χρόνια αργότερα, ανακαλύφθηκε μια επίκτητη μετάλλαξη στο γονίδιο *PIGA* (φωσφατιδυλινοσιτόλη-γλυκάνη Α) που είναι υπεύθυνη για την ανεπαρκή σύνθεση

του μορίου-άγκυρα GPI.^{3,8-11} Τέλος, κατά τη δεκαετία του 2000, η ανακάλυψη του μονοκλωνικού αντισώματος eculizumab, που αναστέλλει την τελική ενεργοποίηση του συμπληρώματος απέδειξε ότι βελτιώνει την αιμόλυση και μειώνει την εμφάνιση των θρομβώσεων στους ασθενείς με ΠΝΑ με αποτέλεσμα τη βελτίωση της επιβίωσης και της ποιότητας ζωής των ασθενών αυτών.^{3,12} Πρόσφατα, έλαβε έγκριση και ένας ακόμα C5 αναστολέας, το ravulizumab με το πλεονέκτημα να χορηγείται ανά οκτώ εβδομάδες.¹³ Συνοπτικά το χρονοδιάγραμμα των βασικών ανακαλύψεων που αφορούν την ΠΝΑ περιγράφονται στην Εικόνα 1.¹⁴



Εικόνα 1: Συνοπτικό χρονοδιάγραμμα των βασικών ανακαλύψεων της ΠΝΑ (Kanakura Y, Kinoshita T, Nishimura J, eds. *Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: From Bench to Bedside*. Springer Japan; 2017. doi:10.1007/978-4-431-56003-6 - τροποποιημένο).¹⁴

1.2 Επιδημιολογία

Η πραγματική επίπτωση της ΠΝΑ είναι άγνωστη, αλλά υπολογίζεται σε 1,5-2 περιπτώσεις ανά εκατομμύριο πληθυσμού ανά έτος, με επιπολασμό 15,9 περιπτώσεις ανά εκατομμύριο πληθυσμού.¹⁵

Το διεθνές μητρώο καταγραφής των ασθενών με ΠΝΑ αποτελεί τη μεγαλύτερη παγκόσμια μελέτη παρατήρησης ασθενών με ΠΝΑ, και έχει σχεδιαστεί για τη βελτιστοποίηση της διαχείρισης των ασθενών με βάση τη συλλογή δεδομένων που σχετίζονται με το φορτίο της νόσου, την εξέλιξη και την κλινική έκβαση.¹⁶ Από τις 17 Ιουλίου 2017, 4948 ασθενείς συμμετείχαν στο μητρώο και από αυτούς 4439 ασθενείς συμπεριλήφθηκαν στον πληθυσμό της μελέτης καθώς είχαν ολοκληρωμένα δεδομένα όσον αφορά τα δημογραφικά στοιχεία, την ημερομηνία ένταξης και την κατάσταση της νόσου σε σχέση με το eculizumab.¹⁶ Η διάμεση ηλικία κατά τη διάγνωση ήταν 43,7 έτη και 53% των ασθενών ήταν γυναίκες. Στη λευκή φυλή ανήκαν 78,4% των ασθενών και 16,3% ήταν Ασιάτες.¹⁶ Η διάμεση διάρκεια της

νόσου ήταν ελαφρώς μικρότερη σε σχέση με προηγούμενη καταγραφή που ήταν 4,6 έτη.^{16,17} Ο διάμεσος ΠΝΑ κλώνος των κοκκιοκυττάρων ήταν 31,8%. Κατά τη διάγνωση, περίπου 63% των ασθενών ανέφεραν ιστορικό ανεπάρκειας μυελού των οστών και 53% είχαν ιστορικό απλαστικής ή υποπλαστικής αναιμίας.¹⁶ Συνολικά, οι ασθενείς κατά τη διάγνωση είχαν υψηλό φορτίο νόσου, όπως αυτό αντικατοπτρίζεται στο ποσοστό των ασθενών με αιμόλυση (55,8%) και μειωμένη νεφρική λειτουργία (42,8%) με εκτιμώμενο ρυθμό σπειραματικής διήθησης [eGFR] <90 mL/min/1,73 m²).¹⁶ Ιστορικό μεταγίσεων είχαν 61,3% των ασθενών ενώ τα ποσοστά θρομβωτικού επεισοδίου και μείζονος αγγειακού συμβάντος ήταν 13,3% και 18,8% αντίστοιχα.¹⁶ Επίσης, ιστορικό αντιπηκτικής θεραπείας ανέφεραν 20,2% των ασθενών και ανοσοκατασταλτικής θεραπείας 38,8% των ασθενών.¹⁶ Τα συμπτώματα που σχετίζονται με την ΠΝΑ, όπως αυτά αναφέρθηκαν κατά τη διάγνωση, ήταν κόπωση (80,9%), δύσπνοια (45,3%), αιμοσφαιρινουρία (45%), κοιλιακό άλγος (35,2%), δυσφαγία (16,5%) και στυτική δυσλειτουργία (24,2%).¹⁶

Η διάμεση επιβίωση των ασθενών με ΠΝΑ ήταν περίπου 10 χρόνια τη δεκαετία του 1990,^{1,18-20} αλλά αυτή αυξήθηκε σε πάνω από 20 χρόνια στις αρχές της δεκαετίας του 2000.^{1,20} Με την εισαγωγή του eculizumab στη θεραπευτική των ασθενών με ΠΝΑ φαίνεται ότι το προσδόκιμο επιβίωσης των ασθενών αυτών προσεγγίζει αυτό του γενικού πληθυσμού.^{1,21,22} Επίσης, οι ασθενείς με αιμολυτική ΠΝΑ που λαμβάνουν eculizumab έχουν μια πιο ευνοϊκή πρόγνωση σε σχέση με τους ασθενείς με σημαντική ανεπάρκεια μυελού των οστών, όπως η απλαστική αναιμία (ΑΑ).^{1,21} Ο λόγος της διαφοράς αυτής είναι ότι το eculizumab δεν δρα θεραπευτικά στην υποκείμενη ανεπάρκεια του μυελού.¹ Σε μία πρόσφατη μελέτη από 5 αιματολογικά κέντρα της Αυστρίας, όπου αναλύθηκαν δεδομένα από 59 ασθενείς, φάνηκε ότι η διάμεση επιβίωση ήταν 50 μήνες.²³ Συνολικά, 7 από τους 59 ασθενείς κατέληξαν μετά από 0,5-32 χρόνια.²³ Αιτίες θανάτου ήταν η οξεία πνευμονική υπέρταση, το σύνδρομο Budd-Chiari και η σηψαιμία.²³

1.3 Γενετική

Η βιοσύνθεση του GPI αποτελεί ένα μετα-μεταφραστικό μονοπάτι που πραγματοποιείται στο ενδοπλασματικό δίκτυο^{3,24} και απαιτεί περισσότερα από 10 βήματα, ενώ εμπλέκονται περισσότερα από 26 γονιδιακά προϊόντα.³ Το προϊόν του γονιδίου *PIGA* αποτελεί μία από 7 πρωτεΐνες που εμπλέκονται στο πρώτο βήμα της βιοσύνθεσης της GPI άγκυρας.³ Θεωρητικά, μια μετάλλαξη οποιουδήποτε γονιδίου

του μονοπατιού θα μπορούσε να οδηγήσει σε ΠΝΑ.³ Ωστόσο, οι μεταλλάξεις του *PIGA* είναι οι πρώτες που έχουν αναγνωριστεί και οι συχνότερες σε ασθενείς με ΠΝΑ.^{3,8,9,11,25} Το γονίδιο *PIGA* βρίσκεται στο X χρωμόσωμα και ως εκ τούτου μια μόνο σωματική μετάλλαξη σε ένα αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο είναι αρκετή για την εκδήλωση του φαινότυπου της ΠΝΑ.³ Τα υπόλοιπα γνωστά γονίδια που σχετίζονται με το μονοπάτι της βιοσύνθεσης της GPI άγκυρας είναι σωματικά και απαιτείται η διαταραχή της λειτουργίας και των δύο αλληλόμορφων για να επηρεαστεί η σύνθεση της GPI άγκυρας.³ Το γονίδιο *PIGA* μήκους 16 kb βρίσκεται στο Xp22.1 και κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που περιέχει 484 αμινοξέα (60 kDa).^{3,10} Πολυάριθμες σωματικές μεταλλάξεις σε όλη την έκταση του γονιδίου *PIGA* έχουν περιγραφεί σε ασθενείς με ΠΝΑ.³ Οι περισσότερες μεταλλάξεις του *PIGA* είναι μικρές προσθήκες ή διαγραφές, γεγονός που έχει σαν αποτέλεσμα την μετατόπιση του πλαισίου κωδικοποίησης και συνεπώς την παραγωγή ενός μικρότερου και μη λειτουργικού προϊόντος.^{3,26} Αν και η λειτουργία του *PIGA* συνήθως καταργείται από αυτές τις μετατοπιστικές μεταλλάξεις, έχουν περιγραφεί και μεταλλάξεις, όπου το προϊόν του μεταλλαγμένου γονιδίου *PIGA* διατηρεί κάποια υπολειμματική δραστηριότητα.³ Οι μεταλλάξεις του *PIGA* για να προκαλέσουν ΠΝΑ θα πρέπει να αφορούν ένα αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο που έχει την ικανότητα αυτοανανέωσης αλλά και κλωνικής επικράτησης.^{3,27,28} Οι μηχανισμοί που οδηγούν στην κλωνική επικράτηση των ΠΝΑ αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων αποτελούν θέμα συνεχούς έρευνας.³ Η όποια υπόθεση θα πρέπει να λαμβάνει υπόψη τη στενή παθοφυσιολογική σχέση μεταξύ της ΠΝΑ και της επίκτητης απλαστικής αναιμίας, μιας αυτοάνοσης νόσου που προκαλείται από T λεμφοκύτταρα και χαρακτηρίζεται από μείωση των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων.³ Η επικρατέστερη υπόθεση είναι ότι τα ΠΝΑ αρχέγονα κύτταρα έχουν ένα υποθετικό πλεονέκτημα επιβίωσης σε έδαφος μιας αυτοάνοσης κατάστασης (π.χ. απλαστική αναιμία) που έχει σαν στόχο το μυελό των οστών.^{3,29-31}

Η απουσία του CD59 ευθύνεται κυρίως για τις κλινικές εκδηλώσεις της ΠΝΑ.³ Έχουν περιγραφεί σπάνιες περιπτώσεις κληρονομικών μεταλλάξεων στο CD59 που οδηγούν σε απώλεια του CD59 στην επιφάνεια των κυττάρων.^{3,32,33} Ο φαινότυπος αυτών των ασθενών μιμείται την ΠΝΑ καθώς παρουσιάζουν χρόνια ενδοαγγειακή αιμόλυση με παροξυσμικές αιμολυτικές κρίσεις και τάση για θρομβώσεις, ενώ σε αντίθεση με τους ασθενείς με ΠΝΑ εμφανίζουν υποτροπιάζουσα περιφερική νευροπάθεια ανοσολογικής αρχής.³ Στην κλασική ΠΝΑ, η ανεπάρκεια του CD59 εντοπίζεται μόνο στα κύτταρα του αίματος ενώ στους ασθενείς με

γενετικές μεταλλάξεις του CD59, η ανεπάρκεια του CD59 υπάρχει σε όλα τα κύτταρα του σώματος γεγονός που υποδηλώνει ότι συσχετίζεται με απομυελίνωση μέσω ενεργοποίησης του συμπλήρωματος.³

Σωματικές μεταλλάξεις του *PIGA* σε αιμοποιητικά κύτταρα ανευρίσκονται σε χαμηλή συχνότητα και σε υγιή άτομα.^{3,28,34} ΠNA κοκκιοκύτταρα μπορεί να βρεθούν μέχρι και σε 25% των ασθενών με μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο (ΜΔΣ), ωστόσο, σε αντίθεση με την επίκτητη απλαστική αναιμία, είναι εξαιρετικά σπάνια η εξέλιξη σε ΠNA στους ασθενείς με ΜΔΣ.^{3,35-37} Αυτοί οι μικροί κλώνοι ΠNA στα ΜΔΣ φαίνεται να μην είναι κλινικά σημαντικοί επειδή οι μεταλλάξεις του *PIGA* σε αυτό το νόσημα αφορούν πιο ώριμα κύτταρα που εξαφανίζονται με το χρόνο και όχι τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα.^{3,38} Αντίθετα, οι μεταλλάξεις του *PIGA* στους ασθενείς με ΠNA καθώς και στους ασθενείς με επίκτητη απλαστική αναιμία εμφανίζονται σε πολυδύναμα αιμοποιητικά κύτταρα και υπάρχουν σε όλες τις κυτταρικές σειρές συμπεριλαμβανομένων και των T λεμφοκυττάρων.^{3,38}

Πρόσφατα έχει αναφερθεί μία διαλληλική μετάλλαξη του *PIGT* στο χρωμόσωμα 20.³⁹ Οι ασθενείς αυτοί έχουν κλινικά τυπική ΠNA, αλλά έχουν επιπλέον εμφανή αυτοφλεγμονώδη χαρακτηριστικά, συμπεριλαμβανομένων επαναλαμβανόμενων επεισοδίων άσηπτης μηνιγγίτιδας.³⁹

1.4 Παθοφυσιολογία

Δύο χαρακτηριστικά διακρίνουν την ΠNA από όλες τις άλλες αιμολυτικές αναιμίες.⁴⁰ Πρώτον, η γενετική βλάβη στην οποία οφείλεται η παθοφυσιολογία της ΠNA δεν περιορίζεται στο ερυθροκύτταρο,⁴⁰ αλλά αφορά το αρχέγονο αυτοποιητικό κύτταρο.⁴⁰ Δεύτερον, η γενετική βλάβη είναι επίκτητη και όχι κληρονομική, όπως συμβαίνει στις συγγενείς αιμολυτικές αναιμίες.⁴⁰

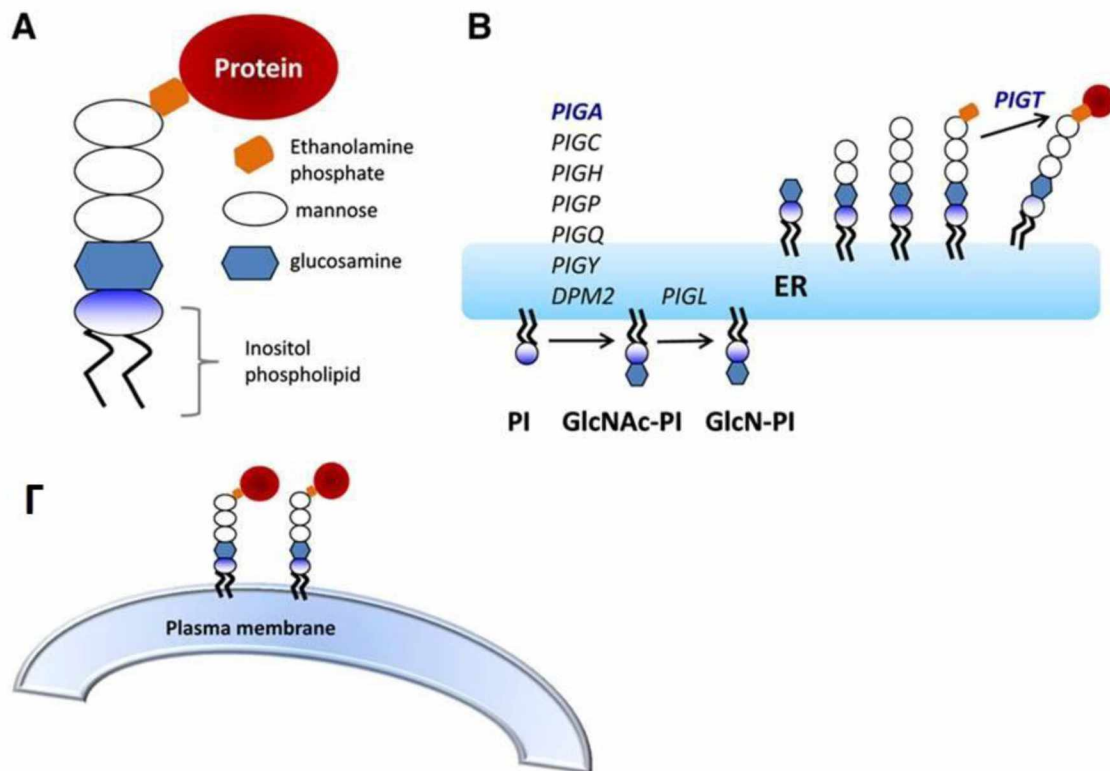
Η ΠNA είναι αποτέλεσμα επίκτητης μετάλλαξης στο γονίδιο *PIGA* που εμφανίζεται στα αιμοποιητικά στελεχιαία κύτταρα και οδηγεί σε σοβαρή ανεπάρκεια ή απουσία σύνθεσης του μορίου GPI, ένα γλυκολιπίδιο και χρησιμεύει σαν άγκυρα για την σύνδεση περισσότερων από 150 διαφορετικών πρωτεϊνών στην επιφάνεια των κυττάρων (Εικόνα 2).³ Το γονίδιο *PIGA* είναι φυλοσύνδετο (X χρωμόσωμα), και εκφράζει μια πρωτεΐνη με ενζυμική δράση απαραίτητη στο πρώτο βήμα βιοσύνθεσης του μορίου-άγκυρας GPI.³ Επομένως, οι μεταλλάξεις *PIGA* που προκαλούν ΠNA οδηγούν σε απώλεια ενζυματικής λειτουργίας (μερική ή ολική), με τελικό αποτέλεσμα την σχεδόν πλήρη ή πλήρη απουσία έκφρασης όλων των GPI

συνδεδεμένων πρωτεϊνών.⁴⁰ Μεταξύ αυτών των GPI συνδεδεμένων πρωτεϊνών είναι και οι ανασταλτικές πρωτεΐνες του συμπληρώματος, CD55 (DAF - Decay Accelerating Factor) και CD59 (MIRL - Membrane Inhibitor of Reactive Lysis).⁴⁰ Η CD59 είναι μια γλυκοπρωτεΐνη 19 KDa, η οποία έχει άμεση ανασταλτική δράση στο σύμπλεγμα επίθεσης στη μεμβράνη (MAC, Membrane attack complex) που αποτελεί το τελικό προϊόν ενεργοποίησης του συμπληρώματος, έτσι ώστε να προλαμβάνει τη λύση των κυττάρων.^{3,41} Η CD55 είναι μια γλυκοπρωτεΐνη 68 KDa, η οποία επιταχύνει τον ρυθμό καταστροφής της κονβερτάσης C3 του συμπληρώματος^{3,42} και ως εκ τούτου αναστέλλει την πέραν της C3 ενεργοποίησης του συμπληρώματος.³ Ο μηχανισμός της ενδοαγγειακής μέσω του συμπληρώματος αιμόλυσης της ΠΝΑ βασίζεται στην ανεπάρκεια αυτών των 2 πρωτεϊνών.⁴⁰ Παρά την απώλεια όλων των GPI συνδεδεμένων πρωτεϊνών (GPI-APs) από όλα τα αιμοποιητικά κύτταρα (ερυθροκύτταρα, κοκκιοκύτταρα, μονοκύτταρα, λεμφοκύτταρα, και αιμοπετάλια), τα οποία προέρχονται από το *PIGA* μεταλλαγμένο αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο, δεν υπάρχουν στοιχεία ότι η ανεπάρκεια άλλων GPI-APs εκτός από το CD55 και το CD59 μπορεί να συμβάλλει κλινικά στην παθοφυσιολογία της ΠΝΑ.⁴⁰ Επομένως, η ενεργοποίηση του συμπληρώματος οδηγεί σε αιμόλυση των ΠΝΑ ερυθροκυττάρων καθώς και ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, των μονοκυττάρων και των κοκκιοκυττάρων.³ Στα αιμοποιητικά κύτταρα υπάρχουν περισσότερες από 12 πρωτεΐνες που χρησιμοποιούν το μόριο GPI (GPI-APs) για να συνδεθούν στην κυτταρική επιφάνεια, συμπεριλαμβανομένων αντιγόνων των ομάδων αίματος, μορίων προσκόλλησης και ρυθμιστικών πρωτεϊνών του συμπληρώματος.³ Όπως προαναφέρθηκε, οι περισσότερες κλινικές εκδηλώσεις της ΠΝΑ οφείλονται στην απουσία των CD55 και CD59 πρωτεϊνών (Εικόνα 3)^{3,41,43} Η εναλλακτική οδός ενεργοποίησης του συμπληρώματος παίζει σημαντικό ρόλο στο μηχανισμό αιμόλυσης των ερυθροκυττάρων της ΠΝΑ.³ Στην οδό αυτή, η πρωτεΐνη C3 υδρολύεται αυθόρμητα και οδηγεί στο σχηματισμό της C3 κονβερτάσης (μηχανισμός γνωστός και ως tick-over).³ Η αιμόλυση στην ΠΝΑ είναι χρόνια λόγω της συνεχούς ενεργοποίησης του συμπληρώματος μέσω του μηχανισμού tick-over, ωστόσο, μπορεί να εκδηλωθούν και παροξυσμοί αιμόλυσης ως αποτέλεσμα ενεργοποίησης του συμπληρώματος που προκαλείται στο πλαίσιο χειρουργικής επέμβασης, λοίμωξης ή φλεγμονής.³ Ο μηχανισμός της ενδοαγγειακής αιμόλυσης ξεκινά με την αυξημένη δραστηριότητα της C3 κονβερτάσης στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων ΠΝΑ λόγω έλλειψης του CD55.³ Αυτό οδηγεί σε ενεργοποίηση των C3, C5 και του τερματικού μονοπατιού του συμπληρώματος με αποκορύφωμα τον σχηματισμό του MAC.³ Υπό

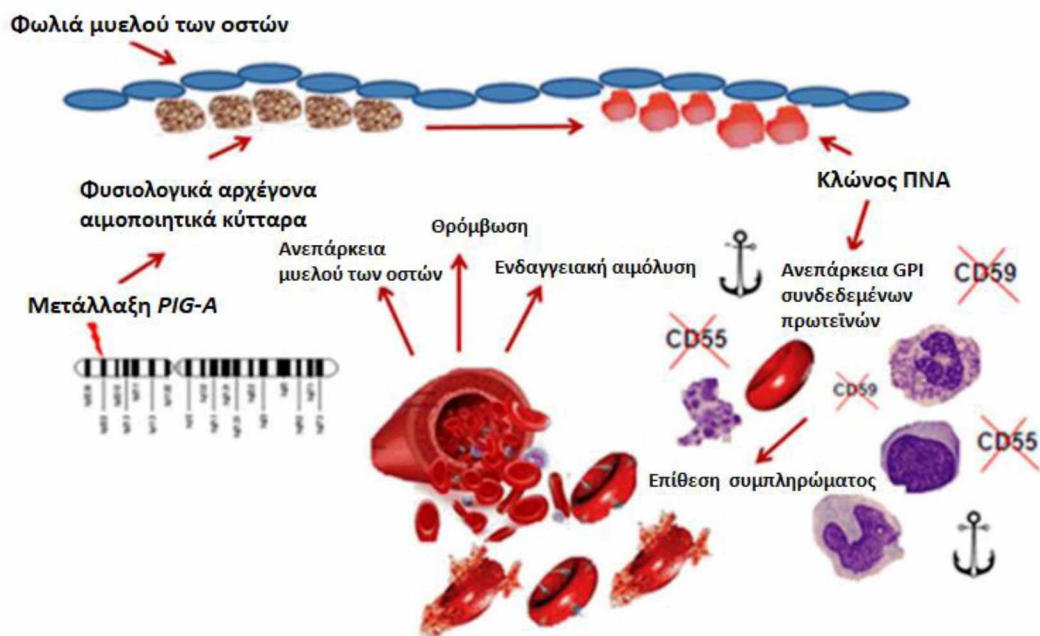
κανονικές συνθήκες, ο σχηματισμός του MAC υπόκειται στον έλεγχο του CD59. Η απουσία CD59 στα ερυθροκύτταρα ΠΝΑ οδηγεί σε ανεξέλεγκτο σχηματισμό του MAC με αποτέλεσμα την ενδοαγγειακή αιμόλυση μέσω του συμπληρώματος.³ Η εξωαγγειακή αιμόλυση στην ΠΝΑ ξεκινά με αυξημένη οψωνινοποίηση των ερυθροκυττάρων ΠΝΑ από θραύσματα του συμπληρώματος (κυρίως C3b).³ Αυτό είναι το αποτέλεσμα της έλλειψης του CD55.³ Τα οψωνινοποιημένα ερυθροκύτταρα απομακρύνονται και καταστρέφονται από κύτταρα του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος.^{3,44}

Οι μηχανισμοί θρόμβωσης στην ΠΝΑ παραμένουν επί του παρόντος ασαφείς.^{1,2} Η ενδοαγγειακή αιμόλυση και η ενεργοποίηση των ΠΝΑ αιμοπεταλίων έχουν προταθεί ως παράγοντες που συμβάλλουν στη θρόμβωση.¹ Η εμπλοκή οδών σηματοδότησης που εξαρτώνται από την ενεργοποίηση του C5 του συμπληρώματος έχει επίσης προταθεί ως πιθανός μηχανισμός, λόγω της παρατήρησης ότι η θεραπεία με eculizumab μπορεί να μειώσει τον αριθμό των θρομβωτικών συμβάντων.^{1,22,45} Η ενεργοποίηση του C5 προάγει την πήξη μέσω διαφόρων μηχανισμών και με τη σειρά τους, οι παράγοντες πήξης, μπορούν επίσης να ενεργοποιήσουν τον καταρράκτη του συμπληρώματος¹, δημιουργώντας ένα φαύλο κύκλο.

Σε αντίθεση με την ενδοαγγειακή αιμόλυση και τη θρόμβωση, η ανεπάρκεια του μυελού των οστών δεν φαίνεται να έχει άμεση σχέση με την παρουσία των σωματικών μεταλλάξεων του *PIGA* στα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα.¹ Υπάρχουν ενδείξεις ότι η ανεπάρκεια του μυελού είναι αποτέλεσμα εκλεκτικής καταστολής των GPI+ αιμοποιητικών κυττάρων από T αυτοαντιδραστικά κύτταρα, ενώ διαφεύγουν αυτής της καταστολής τα GPI αρνητικά κύτταρα της ΠΝΑ.^{1,46,47}



Εικόνα 2: Βιοσύνθεση γλυκολιπιδίου GPI. (Α) Βασική δομή του GPI. Το φωσφολιπίδιο ινοσιτόλης (PI) αγκυρώνεται στη λιπιδική διπλή στιβάδα της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Ο πυρήνας της γλυκάνης αποτελείται από ένα μόριο N-γλυκοζαμίνης, 3 μόρια μαννόζης και ένα μόριο φωσφορικής αιθανολαμίνης. Η πρωτεΐνη είναι ομοιοπολικά συνδεδεμένη με την αιθανολαμίνη στο τελικό μόριο μαννόζης. (Β) Η βιοσύνθεση του μορίου GPI γίνεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Η πρωτεΐνη-ένζυμο PIGA αποτελεί 1 από 7 υπομονάδες που εμπλέκονται στο πρώτο βήμα της βιοσύνθεσης του GPI. Η βιοσύνθεση του GPI γίνεται σε περισσότερα από 10 βήματα και εμπλέκονται περισσότερα από 25 γονίδια. Μετά τη σύνδεση της πρωτεΐνης με το μόριο-άγκυρα GPI ακολουθεί η μεταφορά του συμπλόκου GPI-αγκυρωμένη πρωτεΐνη στη συσκευή Golgi, όπου γίνεται η αναδιαμόρφωση λιπαρών οξέων και (Γ) τελικά η GPI αγκυρωμένη πρωτεΐνη μεταφέρεται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη (Brodsky RA. *Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*. *Blood*. 2014;124(18):2804-2811. doi:10.1182/blood-2014-02-522128-τροποποιημένο).³



Εικόνα 3: Παθογένεση της ΠΝΑ. Η νόσος είναι το αποτέλεσμα μιας σωματικής επίκτητης μετάλλαξης στο γονίδιο PIG-A. Υπάρχει ανεπάρκεια των GPI συνδεδεμένων πρωτεϊνών στα προσβεβλημένα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα οι οποίες χρησιμεύουν ως ρυθμιστές του συμπληρώματος στην μεμβράνη των ερυθροκυττάρων. Η ενδοαγγειακή αιμόλυση και άλλες κλινικές εκδηλώσεις στην ΠΝΑ οφείλονται στην ανεπάρκεια των πρωτεϊνών CD55 και CD59 (Sahin F, Ozkan MC, Mete NG, et al. Multidisciplinary clinical management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Am J Blood Res. 2015;5(1):1-9 - τροποποιημένο).¹⁵

1.5 Διάγνωση ΠΝΑ

Ασθενείς με Coombs αρνητική αιμολυτική αναιμία ή με απλαστική αναιμία, ή με μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο του τύπου της ανθεκτικής αναιμίας, καθώς και ασθενείς με ανεξήγητο επεισόδιο θρόμβωσης σε συνδυασμό με πανκυτταροπενία ή αιμόλυση, θα πρέπει να ελέγχονται για ΠΝΑ.^{1,48} Οι εργαστηριακές εξετάσεις που θα πρέπει να ζητηθούν όταν υπάρχει υποψία για ΠΝΑ περιλαμβάνουν: γενική εξέταση αίματος με πλήρη λευκοκυτταρικό τύπο, αριθμό δικτυοερυθροκυττάρων, επίχρισμα περιφερικού αίματος, εξέταση Coombs και γαλακτική δευδρογενάση.¹

Αρχικά, για την διάγνωση της ΠΝΑ χρησιμοποιούνταν το Ham τεστ και η δοκιμασία αιμόλυσης με σουκρόζη.^{7,49,50} Αυτές οι δοκιμασίες είναι σύνθετες και χρονοβόρες και σχετικά μη ειδικές και μη ευαίσθητες, καθώς διακρίνουν τα ΠΝΑ κύτταρα μέσω της ευαισθησίας τους στην αιμολυτική δράση του συμπληρώματος.⁴⁹ Οι δοκιμασίες αυτές έχουν αντικατασταθεί πλέον από την κυτταρομετρία ροής λόγω υψηλότερης ευαισθησίας και ειδικότητας συγκριτικά, καθώς μπορεί να μετρήσει με ακρίβεια το μέγεθος του πληθυσμού των ΠΝΑ κυττάρων.⁴⁹ Επομένως, η κλινική διάγνωση της ΠΝΑ θα πρέπει να επιβεβαιωθεί με κυτταρομετρία ροής περιφερικού αίματος έτσι ώστε να προσδιοριστεί η απουσία ή η σοβαρή ανεπάρκεια των GPI συνδεδεμένων πρωτεϊνών σε τουλάχιστον δύο ή περισσότερες κυτταρικές σειρές.^{1,48,51}

Για την ανίχνευση των GPI συνδεδεμένων πρωτεϊνών μπορούν να χρησιμοποιηθούν είτε μονοκλωνικά αντισώματα (π.χ. αντι-CD55 και/ή αντι-CD59), είτε ένα αντιδραστήριο αερολυσίνης συνδεδεμένο με φθοριόχρωμα, γνωστό ως FLAER (Fluorescently Labeled AERolysin).^{1,52} Η αερολυσίνη είναι μια τοξίνη που εκκρίνεται από την *Aeromonas Hydrofila* η οποία είναι συνδεδεμένη με φθοριόχρωμα και συνδέεται στην γλυκάνη των GPI υποδοχέων της κυτταρικής μεμβράνης.^{1,48} Η μέθοδος αυτή, λειτουργεί καλύτερα στα εμπύρνηνα κύτταρα και όχι στα ερυθρά αιμοσφαίρια, καθώς αυτά εκφράζουν υψηλά επίπεδα γλυκοφορίνης, μια πρωτεΐνη που συνδέεται με την αερολυσίνη και, επομένως, παρεμβαίνει στη διαδικασία.¹

Η βιοψία μυελού των οστών δεν απαιτείται για τη διάγνωση της ΠΝΑ, αλλά θα πρέπει να πραγματοποιείται σε ασθενείς με σοβαρή πανκυτταροπενία.¹ Στους ασθενείς με αιμολυτική ΠΝΑ, ο μυελός των οστών έχει συνήθως φυσιολογική ή αυξημένη κυτταροβρίθεια με υπερπλασία και συχνά δυσπλαστικές αλλοιώσεις της ερυθράς σειράς λόγω της ταχείας εναλλαγής των ερυθροκυττάρων και απουσία σιδήρου κυρίως σε ασθενείς που έχουν μακρύ ιστορικό ενδοαγγειακής αιμόλυσης.¹

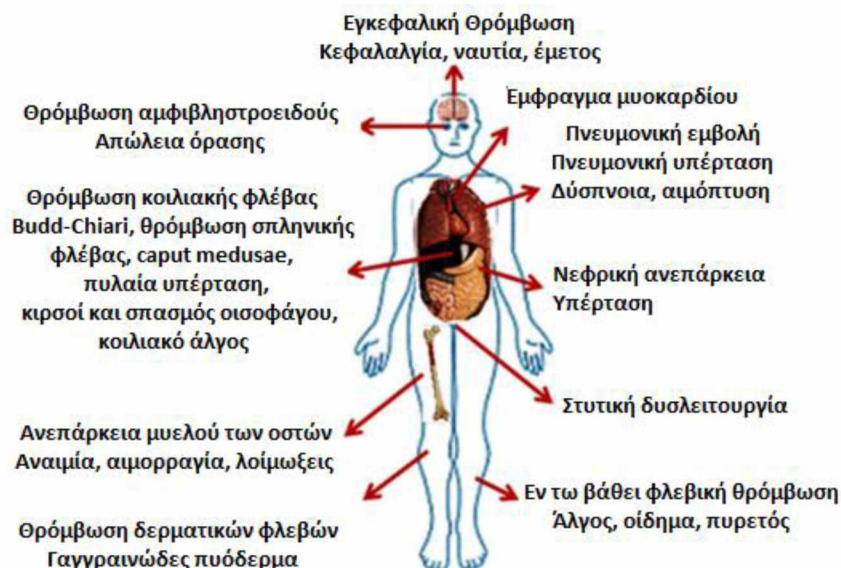
Έτσι, ο μυελός των οστών μπορεί να μοιάζει με αυτόν που παρατηρείται σε ασθενείς με μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο.^{1,53} Η κοκκιάδης και η μεγακαρυοκυτταρική σειρά είναι συνήθως μορφολογικά φυσιολογικές, ενώ καρυοτυπικές ανωμαλίες μπορεί να υπάρχουν σε έως 25% των ασθενών.^{1,53} Οι ασθενείς με απλαστική αναιμία και ΠΝΑ έχουν υποκυτταρικό μυελό των οστών με σχετική υπεροχή της ερυθράς σειράς και μικρού βαθμού δυσπλασία και στροφή προς τα αριστερά, παρουσία σιδήρου στον μυελό, ενώ ο αριθμός των μεγακαρυοκυττάρων είναι σημαντικά μειωμένος.¹ Ο καρυότυπος είναι συνήθως φυσιολογικός και ο αριθμός των CD34+ κυττάρων (αρχέγονα και προγονικά αιμοποιητικά κύτταρα) είναι σημαντικά μειωμένος.^{1,54}

1.6 Ταξινόμηση ΠΝΑ

Η Διεθνής Ομάδα Ενδιαφέροντος για την ΠΝΑ (*International PNH Interest Group - IPIG*) έχει ταξινομήσει την ΠΝΑ σε 3 κλινικούς υποτύπους: 1) την κλασική ΠΝΑ, η οποία χαρακτηρίζεται από κλώνο ΠΝΑ και κλινικές εκδηλώσεις αιμόλυσης ή θρόμβωσης χωρίς στοιχεία μυελικής ανεπάρκειας,^{55,56} 2) την παρουσία κλώνου ΠΝΑ στα πλαίσια άλλων πρωτοπαθών διαταραχών του μυελού των οστών, όπως ΑΑ και ΜΔΣ,^{55,56} 3) την υποκλινική ΠΝΑ, η οποία χαρακτηρίζεται από μικρούς ΠΝΑ κλώνους χωρίς κλινικές ή εργαστηριακές ενδείξεις αιμόλυσης ή θρόμβωσης.^{55,56} Η διάκριση μεταξύ αυτών των υποτύπων μπορεί να αποτελεί πρόκληση κυρίως λόγω διαφορετικού βαθμού μυελικής ανεπάρκειας που παρατηρείται σε όλους τους υποτύπους ΠΝΑ⁵⁶ και η ταξινόμηση της νόσου σε έναν ασθενή μπορεί να αλλάξει με την πάροδο του χρόνου.¹

1.7 Κύριες κλινικές εκδηλώσεις της ΠΝΑ

Οι κλινικές εκδηλώσεις στους ασθενείς με ΠΝΑ αφορούν πολλά συστήματα, είναι συχνά μη ειδικές και σχετίζονται με την ενδοαγγειακή αιμόλυση, τη θρόμβωση και την ανεπάρκεια του μυελού των οστών (Εικόνα 4).^{15,57}



Εικόνα 4: Κλινικές εκδηλώσεις της ΠΝΑ (Sahin F, Ozkan MC, Mete NG, et al. *Multidisciplinary clinical management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Am J Blood Res.* 2015;5(1):1-9 - τροποποιημένο).¹⁵

Αναιμία

Η αναιμία στην ΠΝΑ είναι συχνά πολυπαραγοντική και μπορεί να οφείλεται στο συνδυασμό αιμόλυσης και ανεπάρκειας μυελού των οστών.¹ Η ενδοαγγειακή αιμόλυση με μέτρια έως σοβαρή αναιμία, αυξημένο αριθμό δικτυοερυθροκυττάρων, φυσιολογικό ή αυξημένο μέσο όγκο ερυθρών (Mean Corpuscular Volume - MCV) και σημαντικά αυξημένα επίπεδα γαλακτικής δεϋδρογενάσης είναι κοινά ευρήματα στην αιμολυτική ΠΝΑ.¹ Σε ασθενείς με χρόνια αιμόλυση μπορεί να συνυπάρχει και σιδηροπενία λόγω χρόνιας αιμοσιδηρινουρίας. Συνήθως, τα ευρήματα στο επίχρισμα περιφερικού αίματος είναι μη ειδικά (πολυχρωμασία, μικροσφαιροκύτταρα, υποχρωμία κ.α).¹ Στην ΠΝΑ σε έδαφος απλαστικής αναιμίας, η αναιμία οφείλεται κυρίως στην μυελική ανεπάρκεια με υποκυτταρικό μυελό, ενώ συνυπάρχει θρομβοπενία, μικρό ποσοστό ΠΝΑ κοκκιοκυττάρων, χαμηλός αριθμός

δικτυοερυθροκυττάρων και μέτρια αυξημένα ή φυσιολογικά επίπεδα γαλακτικής δεϋδρογενάσης.^{1,58}

Θρόμβωση

Η θρόμβωση αποτελεί την πιο συχνή αιτία θνητότητας στην ΠΝΑ^{1,2} (πριν την εισαγωγή της θεραπείας αναστολής του συμπληρώματος αντιπροσώπευε σχεδόν το 50% των θανάτων).¹ Η φλεβική θρόμβωση τείνει να είναι πιο συχνή από την αρτηριακή.¹ Η θρόμβωση των ηπατικών φλεβών (σύνδρομο Budd-Chiari) αποτελεί την πιο συχνή εντόπιση.¹ Άλλα συχνά σημεία εμφάνισης θρόμβωσης είναι οι κοιλιακές (π.χ. πυλαία, μεσεντέριος και σπληνική) και οι εγκεφαλικές φλέβες (οβελιαίος και σηραγγώδης κόλπος).¹ Επίσης, σχετικά συχνές, είναι και η εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση, η πνευμονική εμβολή και η θρόμβωση δερματικών φλεβών.¹ Στους ασθενείς με ΠΝΑ σε έδαφος απλαστικής αναιμίας μπορεί να εμφανιστεί θρόμβωση αλλά είναι λιγότερο συχνή από ότι σε ασθενείς με αιμολυτική ΠΝΑ.¹

Δυστονία λείων μυών

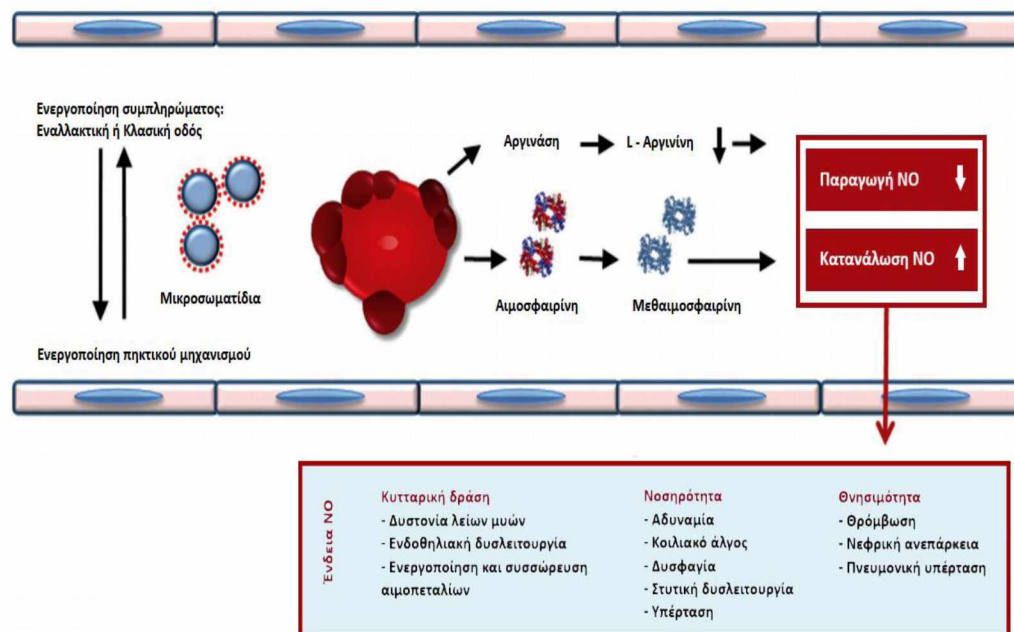
Ο κοιλιακός πόνος, η ραχιαλγία, ο σπασμός του οισοφάγου, η δυσφαγία και η στυτική δυσλειτουργία είναι συχνές εκδηλώσεις στην αιμολυτική ΠΝΑ και συχνά αποτελούν άμεση συνέπεια της ενδοαγγειακής αιμόλυσης και της απελευθέρωσης ελεύθερης αιμοσφαιρίνης.^{1,59,60} Η ελεύθερη αιμοσφαιρίνη συνήθως συνδέεται με την απτοσφαιρίνη και την αιμοπηξίνη και απομακρύνεται από τα μακροφάγα μέσω του υποδοχέα CD163.¹ Ο κορεσμός αυτών των μηχανισμών κάθαρσης, λόγω της χρόνιας ενδοαγγειακής αιμόλυσης, έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης στο πλάσμα και κατά συνέπεια την μείωση του μονοξειδίου του αζώτου (NO).¹ Το μονοξείδιο του αζώτου συντίθεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και συμβάλλει στη χαλάρωση των λείων μυών και την αναστολή ενεργοποίησης και συσώρευσης των αιμοπεταλίων.¹ Η ελεύθερη αιμοσφαιρίνη δεσμεύει το NO ώστε η ιστική ανεπάρκεια σε NO να συμβάλλει στην απορρύθμιση του τόνου των λείων μυϊκών ινών και στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Οι δυστονίες των λείων μυϊκών ινών είναι συχνότερες σε ασθενείς με μεγάλο κλώνο ΠΝΑ στα κοκκιοκύτταρα και σε ασθενείς με σημαντική αύξηση των επιπέδων της γαλακτικής δεϋδρογενάσης.^{1,59}

Αδυναμία και αιμοσφαιρινουρία

Η κόπωση είναι συχνό σύμπτωμα στους ασθενείς με ΠΝΑ και αρκετές φορές δυσανάλογη σε σχέση με τον βαθμό της αναιμίας.¹ Αποτελεί σταθερό σύμπτωμα αλλά γίνεται πιο έντονη κατά τη διάρκεια μιας αιμολυτικής κρίσης.¹ Επεισόδια ικτέρου και αιμοσφαιρινουρίας αναφέρονται σχεδόν στο 50% των ασθενών.¹ Αυτά τα σημεία και συμπτώματα μπορεί να είναι σταθερά ή παροξυσμικά και συχνά επιδεινώνονται από λοιμώξεις, χειρουργικές επεμβάσεις, άσκηση, εγκυμοσύνη ή υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ.¹

Άλλες εκδηλώσεις

Οι ασθενείς με ΠΝΑ έχουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης χρόνιας νεφρικής νόσου ως αποτέλεσμα της μακροχρόνιας ενδοαγγειακής αιμόλυσης.^{1,61} Η νεφρική σωληναριακή βλάβη μπορεί να προκληθεί από μικροαγγειακή θρόμβωση, συσσώρευση εναποθέσεων σιδήρου ή και τα δύο.¹ Έχει επίσης αναφερθεί ήπια έως μέτρια πνευμονική υπέρταση, αλλά η συσχέτιση μεταξύ χρόνιας νεφρικής νόσου και κλινικά σημαντικής πνευμονικής υπέρτασης εξακολουθεί να είναι αμφιλεγόμενη.^{1,62-}
⁶⁴ Οι αυξημένες πνευμονικές πιέσεις και η μειωμένη λειτουργία της δεξιάς κοιλίας που προκαλείται από υποκλινικούς μικροθρόμβους ή λόγω της μείωσης του μονοξειδίου του αζώτου ως αποτέλεσμα της αιμόλυσης, μπορεί να οδηγήσει σε δύσπνοια.¹ Συνοπτικά, οι επιπτώσεις της ενδοαγγειακής αιμόλυσης παρουσιάζονται στην Εικόνα 5.⁶⁵



Εικόνα 5: Συνέπειες ενδοαγγειακής αιμόλυσης.

Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος μέσω της εναλλακτικής ή της κλασικής οδού προκαλεί ενδοαγγειακή αιμόλυση. Το ερυθροκύτταρο απελευθερώνει αιμοσφαιρίνη. Αυτό μετατρέπεται σε μεθαιμοσφαιρίνη μέσω οξείδωσης με NO. Αυτή η διαδικασία καταναλώνει NO. Η αργινάση, ένα άλλο συστατικό του ερυθροκυττάρου, καταλύει το σχηματισμό L-ορνιθίνης με κατανάλωση L-αργινίνης. Η αργινίνη είναι το υπόστρωμα της NO-συνθετάσης. Έτσι αναστέλλεται ο σχηματισμός NO. Αυτές οι δύο διαδικασίες προκαλούν ένδεια NO. Τα μικροσωματίδια παράγονται από την λύση των ερυθροκυττάρων, από αιμοπετάλια και ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω ενεργοποίησης του συμπληρώματος. Το ενεργοποιημένο συμπλήρωμα και το σύστημα πήξης μπορούν να ενεργοποιήσουν το ένα το άλλο δημιουργώντας ένα φαύλο κύκλο θρομβωτικών επεισοδίων στην ΠΝΑ (*Körper S, Höchsmann B, Schrezenmeier H. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria revisited: news on pathophysiology, clinical course and treatment. LaboratoriumsMedizin. 2015;39(2):87-96. doi:10.1515/labmed-2015-0010- τροποποιημένο*).⁶⁵

1.8 Θεραπεία της ΠΝΑ

Η αναστολή του συμπληρώματος και η αλλογενής μεταμόσχευση μυελού των οστών αποτελούν τις μόνες αποτελεσματικές και εγκεκριμένες θεραπείες για ασθενείς με ΠΝΑ.⁶⁶ Η θεραπεία δεν είναι απαραίτητη σε όλους τους ασθενείς καθώς υπάρχουν περιπτώσεις όπου ο κλώνος ΠΝΑ μπορεί να εξαφανιστεί αυτόματα.^{66,67} Ωστόσο, εάν απαιτείται θεραπεία, ο τύπος της θεραπείας εξαρτάται από την κλινική μορφή της νόσου.⁶⁶

Θεραπεία κλασικής ΠΝΑ

Η μοναδική θεραπεία που στοχεύει στην ίαση των ασθενών με ΠΝΑ είναι η αλλογενής μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων.⁶⁶ Ωστόσο, τα υψηλά ποσοστά νοσηρότητας και θνητότητας που σχετίζονται με τη μεταμόσχευση περιορίζουν την επιλογή της στις περιπτώσεις ασθενών με ΠΝΑ που έχουν απλαστική αναιμία και σε περιπτώσεις ασθενών με χρόνια αιμόλυση που δεν ανταποκρίνονται στους αναστολείς συμπληρώματος.^{3,68,69} Η αλλογενής μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων, προσφέρει τη δυνατότητα ίασης εξαλείφοντας τον κλώνο ΠΝΑ, συνδυάζοντας την επίδραση της κυτταροτοξικής δράσης της χημειοθεραπείας προετοιμασίας και της ανοσολογικής δράσης των T κυττάρων του δότη⁷⁰ και προσφέρει μια πιθανή επιλογή για ασθενείς που δεν έχουν πρόσβαση σε αναστολείς του συμπληρώματος ή δεν είναι πρόθυμοι να υποβληθούν σε μία δια βίου θεραπεία χωρίς εγγύηση βελτίωσης της νόσου τους.⁷¹ Από την άλλη μεριά, οι επιπλοκές της αλλογενούς μεταμόσχευσης αναφέρεται ότι επηρεάζουν την ποιότητα ζωής στο ένα τρίτο των ασθενών με ΠΝΑ που υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση, λόγω της νόσου του μοσχεύματος κατά του ξενιστή.⁷¹

Η θεραπεία επιλογής για την ΠΝΑ είναι οι αναστολείς του συμπληρώματος.^{13,72-75} Μέχρι το 2007, η διάμεση επιβίωση των ασθενών με ΠΝΑ ήταν 15 - 20 χρόνια, με την θρόμβωση να αποτελεί την κύρια αιτία θανάτου.^{13,19,59,67} Το 2007, το eculizumab, ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που αναστέλλει το τελικό συμπλήρωμα στο C5, άλλαξε τη φυσική ιστορία της ΠΝΑ.^{12,13} Σήμερα, υπάρχουν πολλοί νέοι αναστολείς του συμπληρώματος που αναστέλλουν το συμπλήρωμα στο C5, αλλά μέχρι στιγμής μόνο το eculizumab και το ravulizumab έχουν λάβει έγκριση από τον US Food and Drug Administration (FDA) και από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (ΕΟΦ) για τη θεραπεία της ΠΝΑ.¹³ Έτσι, με την κατάλληλη

θεραπεία, η επιβίωση των ασθενών με ΠΝΑ είναι πλέον συγκρίσιμη με εκείνη ατόμων του γενικού πληθυσμού και αντίστοιχης ηλικίας.^{13,22,76}

Το eculizumab και το ravulizumab αποτρέπουν την ενδοαγγειακή αιμόλυση και περιορίζουν την εμφάνιση θρομβώσεων, αν και υπάρχει περιθώριο βελτίωσης.¹³ Περισσότεροι από 50% των ασθενών με ΠΝΑ, υπό θεραπεία με αναστολέα του C5, έχουν ήπια με μέτρια συμπτώματα από την ΠΝΑ ενώ ένα ποσοστό έως 20% έχουν ανάγκη από περιστασιακές μεταγγίσεις.¹³ Σε αυτή την ομάδα ασθενών η εξωαγγειακή αιμόλυση είναι η κύρια αιτία ανάγκης σε μεταγγίσεις.¹³ Μπορούμε πλέον να θεωρήσουμε τη θεραπεία με ravulizumab ως θεραπεία εκλογής για την ΠΝΑ καθώς στοχεύει στον ίδιο C5 επίτοπο όπως και το eculizumab και έχει αποδειχθεί μη κατώτερο σε συγκριτικές κλινικές μελέτες.^{13,74,75,77} Το κύριο πλεονέκτημα του ravulizumab είναι ότι ο χρόνος ημίσειας ζωής είναι 4 φορές μεγαλύτερος από αυτόν του eculizumab και μπορεί να χορηγείται ενδοφλεβίως κάθε 8 εβδομάδες μετά από μια φάση φόρτισης 2 εβδομάδων.¹³

Αν και οι ισχυροί αναστολείς του C5 (π.χ., eculizumab,^{72,73} ravulizumab^{74,75}) μειώνουν σημαντικά τον κίνδυνο θρόμβωσης, βελτιώνουν την ποιότητα και τη διάρκεια ζωής των ασθενών και είναι φάρμακα τα οποία έχουν λάβει έγκριση για τη θεραπεία της αιμολυτικής ΠΝΑ ή της ΠΝΑ με θρόμβωση, ωστόσο δεν έχουν την δυνατότητα ίασης της νόσου και οι ασθενείς χρειάζονται θεραπεία δια βίου, γεγονός που από μόνο του αποτελεί σημαντικό περιορισμό στην ποιότητα ζωής τους.⁷¹ Επιπλέον, υπάρχουν αναφορές που δείχνουν ότι μόνο μια μειοψηφία ασθενών επιτυγχάνει πλήρη ή τουλάχιστον σημαντική αιματολογική απόκριση.^{44,71,78} Πολλοί νέοι αναστολείς του συμπληρώματος βρίσκονται αυτή τη στιγμή υπό ανάπτυξη.^{13,78} Το Pegcetacoplan είναι ένας αναστολέας του C3 που χορηγείται υποδορίως, δύο φορές την εβδομάδα, και μπορεί να μπλοκάρει τόσο την ενδοαγγειακή όσο και την εξωαγγειακή αιμόλυση,¹³ και βρίσκεται σε κλινική μελέτη φάσης 3 όπου συγκρίνεται με το eculizumab.¹³ Το Danicopan είναι ένα από του στόματος χορηγούμενο και πολλά υποσχόμενο φάρμακο που εμποδίζει την εναλλακτική οδό του συμπληρώματος αναστέλλοντας τον παράγοντα D.^{13,79} Το Danicopan αυξάνει τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης και εξαλείφει την ανάγκη μετάγγισης αίματος σε ασθενείς με ΠΝΑ μεταγγισιοεξαρτώμενους που βρίσκονται υπο αγωγή με eculizumab.¹³

Θεραπεία υποκλινικής ΠΝΑ

Στην υποκλινική ΠΝΑ, οι ασθενείς είναι ασυμπτωματικοί και δεν χρήζουν καμίας θεραπείας.^{66,80} Ωστόσο, είναι απαραίτητη η τακτική παρακολούθηση αυτών των ασθενών καθώς η αύξηση του ΠΝΑ κλώνου μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη κλασικής ΠΝΑ.⁶⁶

Θεραπεία ΠΝΑ σε έδαφος άλλων πρωτοπαθών διαταραχών του μυελού των οστών

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, ένας κλώνος ΠΝΑ μπορεί να βρεθεί στα πλαίσια ΑΑ ή ΜΔΣ.⁶⁶ Σε αυτή την περίπτωση, η θεραπεία βασίζεται κυρίως στη θεραπεία της υποκείμενης μυελικής ανεπάρκειας.⁶⁶ Έτσι, μπορεί να απαιτείται ανοσοκατασταλτική θεραπεία ή μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων.⁶⁶ Η ανοσοκατασταλτική θεραπεία για την ΑΑ περιλαμβάνει κυκλοσπορίνη ή αντιθυμοκυτταρική σφαιρίνη ανάλογα με τη βαρύτητα της ΑΑ, με αποκρίσεις της νόσου που φτάνουν έως 60% - 70%.⁶⁶ Η υποτροπή της νόσου περιγράφεται ωστόσο στο ένα τρίτο των περιπτώσεων.^{66,81} Στις περισσότερες περιπτώσεις, το μέγεθος του κλώνου ΠΝΑ δεν αλλάζει κατά τη διάρκεια του ανοσοκατασταλτικής αγωγής.⁶⁶ Ωστόσο, σε σπάνιες περιπτώσεις, η ανοσοκατασταλτική θεραπεία μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση του κλώνου ΠΝΑ με αποτέλεσμα επιδείνωση της αιμόλυσης ή των θρομβωτικών επεισοδίων.^{66,82} Σε αυτές τις περιπτώσεις, ο ασθενής πρέπει να αντιμετωπίζεται ως ασθενής με κλασική ΠΝΑ.^{40,66}

1.9 Θρόμβωση στην ΠΝΑ

«We can safely say that PNH is the most vicious acquired thrombophilic state known in medicine», «Μπορούμε να πούμε με ασφάλεια ότι η ΠΝΑ είναι η πιο ανελέητη θρομβοφιλική κατάσταση στην ιατρική»,^{2,83} Με αυτή τη δήλωση από τους Luzzatto et al διακρίνεται ο φόβος που υπάρχει για την πιο συχνή και απειλητική επιπλοκή της ΠΝΑ, τη θρόμβωση.²

Επίπτωση θρόμβωσης

Τα θρομβοεμβολικά επεισόδια αποτελούν την πιο συχνή αιτία θνητότητας στους ασθενείς με ΠΝΑ αντιπροσωπεύοντας περίπου το 40% - 67% των θανάτων, όταν το αίτιο είναι γνωστό.² Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι 29% - 44% των ασθενών με ΠΝΑ παρουσιάζουν τουλάχιστον ένα θρομβοεμβολικό συμβάν στην πορεία της νόσου, αν και ο λόγος που αυτό εμφανίζεται αιφνιδίως δεν είναι ακόμα γνωστός.^{2,19,20,55,59,67,84,85} Μετά από συγκεντρωτική ανάλυση δεδομένων από ασθενείς με ΠΝΑ, έχει βρεθεί ότι ένα ποσοστό περίπου 19% παρουσίασε σπλαχνική (ηπατική, μεσεντέρια, πυλαία, σπληνική) θρόμβωση, προγενέστερα της διάγνωσης της ΠΝΑ.² Για τους υπόλοιπους ασθενείς, η σπλαχνική θρόμβωση εμφανίστηκε σε έναν διάμεσο χρόνο 5 ετών (εύρος 0-24) μετά τη διάγνωση.^{2,86} Η εμφάνιση θρομβωτικών επιπλοκών σχετίζεται με φτωχή επιβίωση^{2,19,87,88} και οι ασθενείς που εμφανίζονται με θρόμβωση κατά την διάγνωση έχουν 40% επιβίωση στα 4 έτη,^{2,19} ενώ ο σχετικός κίνδυνος θανάτου αυξάνεται από 5 έως 15,4 φορές.^{2,85} Βέβαια, είναι πολύ πιθανό το ποσοστό της θρόμβωσης στην ΠΝΑ να είναι υποτιμημένο καθώς όπως έχει φανεί σε μια μελέτη όπου χρησιμοποιήθηκαν ευαίσθητες τεχνικές απεικόνισης, σε 6 από τους 10 ασθενείς με ΠΝΑ (χωρίς γνωστή προηγούμενη θρόμβωση) βρέθηκαν ενδείξεις προγενέστερων υποκλινικών πνευμονικών θρομβώσεων.² Υπήρχαν επίσης ενδείξεις υποκλινικής βλάβης του μυοκαρδίου σε 2 από τους 10 ασθενείς.² Αυτές οι υποκλινικές θρομβώσεις είναι ικανές να οδηγήσουν σε μακροπρόθεσμη βλάβη οργάνων η οποία στην πλειονότητα αυτών των ασθενών αντανακλάται από μειωμένη καρδιακή λειτουργία.^{2,63} Επίσης, υπάρχουν αρκετές μελέτες που αναφέρουν μια ισχυρή συσχέτιση μεταξύ εμφάνισης θρόμβωσης και της παρουσίας ενός μεγάλου ΠΝΑ κλώνου ουδετεροφίλων.^{2,20,59,89} Ωστόσο, φαίνεται ότι τα επεισόδια θρόμβωσης είναι σημαντικά αυξημένα και σε ασθενείς με μικρότερους κλώνους, ακόμα και σε επίπεδο της τάξης του 10%, σε σύγκριση με το γενικό πληθυσμό.^{2,89-91}

Θέσεις θρόμβωσης

Η θρόμβωση στην ΠΝΑ μπορεί να εμφανιστεί σε οποιαδήποτε θέση. Οι πιο κοινές θέσεις περιλαμβάνουν τις ενδοκοιλιακές και εγκεφαλικές φλέβες, για λόγους ακόμα αγνώστους.² Οι φλεβικές θρομβώσεις είναι πιο συχνές και αφορούν το 80 - 85% των περιπτώσεων, ενώ οι αρτηριακές θρομβώσεις εμφανίζονται σε ένα ποσοστό 15 - 20%.^{45,92} Στο ένα πέμπτο των περιπτώσεων περίπου, οι θέσεις θρόμβωσης είναι περισσότερες από μία.² Η θρόμβωση των ηπατικών φλεβών (σύνδρομο Budd-Chiari) είναι μία από τις πιο συχνές θέσεις και αφορά το 7,5% - 25% των ασθενών με ΠΝΑ.^{2,91,93,94} Η θρόμβωση του άνω οβελιαίου φλεβώδους κόλπου είναι η πιο συχνή νευρολογική επιπλοκή και οδηγεί σε θάνατο σε περισσότερο από το ένα τρίτο των περιπτώσεων.^{2,95} Επώδυνες αποχρωματισμένες δερματικές βλάβες μπορεί να εμφανιστούν όταν επηρεάζονται οι δερματικές φλέβες. Αυτές οι βλάβες σπανίως οδηγούν σε δημιουργία ελκών, ωστόσο μια ξεχωριστή οντότητα που μπορεί να μιμηθεί την κεραυνοβόλο πορφύρα μπορεί να αναπτυχθεί σε ασθενείς με ΠΝΑ, επηρεάζοντας μεγάλες περιοχές του δέρματος με σημεία νέκρωσης.^{2,96} Επίσης, έχει παρατηρηθεί και έμφρακτο του εντέρου με σημεία και συμπτώματα εντερικής απόφραξης.² Η θρόμβωση της μεσεντέριας φλέβας οδηγεί σε άλγος δυσανάλογο συγκριτικά με την φυσική εξέταση του ασθενούς^{2,86} και μπορεί να επηρεάσει τις μικρές περιφερικές μεσεντέριες φλέβες προκαλώντας παροδική ισχαιμία.² Η φλεβική θρόμβωση του δωδεκαδακτύλου συνδέεται με θηλώδη υπερπλασία του βλεννογόνου, έλκος και περιφερική μάζα στο τρίτο τμήμα του δωδεκαδακτύλου.^{2,97} Η θρόμβωση της νεφρικής φλέβας ή αρτηρίας δεν είναι συχνή αλλά μπορεί να αποτελέσει έναν επιπλέον λόγο νεφρικής δυσλειτουργίας σε αυτούς τους ασθενείς.² Η εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση των κάτω άκρων εμφανίζεται συχνότερα σε ασθενείς με ΠΝΑ συγκριτικά με τον γενικό πληθυσμό και έχει αναφερθεί περίπου στο ένα τρίτο των ασθενών.^{2,45,67} Στο πνευμονικό αγγειακό σύστημα μπορεί επίσης να αναγνωριστούν θρομβώσεις αλλά δεν είναι πάντα με τη μορφή εμβόλου ή παρουσία εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης των κάτω άκρων, και πιθανολογείται ο *in situ* σχηματισμός τους, που γενικά είναι υποτιμημένος.² Στις μισές αναφορές εγκεφαλικού επεισοδίου που σχετίζονται με ΠΝΑ, η αρτηριακή θρόμβωση ήταν η πρώτη εκδήλωση της νόσου.^{2,98,99} Οι αρτηριακές θρομβώσεις είναι αυξημένες σε ασθενείς με ΠΝΑ και συχνά αφορούν τις εγκεφαλικές και στεφανιαίες αρτηρίες.^{2,89,98,100-103}

Πότε θα πρέπει να γίνεται έλεγχος για ΠΝΑ σε ασθενείς με θρόμβωση

Αντίθετα με το τι συμβαίνει στις κληρονομικές θρομβοφιλίες, η παρουσία ΠΝΑ κλώνου σε έναν ασθενή με θρόμβωση είναι πολύ πιθανό να χρήζει ειδικής διαχείρισης.² Έτσι, στα πλαίσια διερεύνησης θρομβοφιλίας θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη και ο έλεγχος για ΠΝΑ με κυτταρομετρία ροής, όταν ένας ασθενής έχει κάποιο επεισόδιο ανεξήγητης θρόμβωσης και:

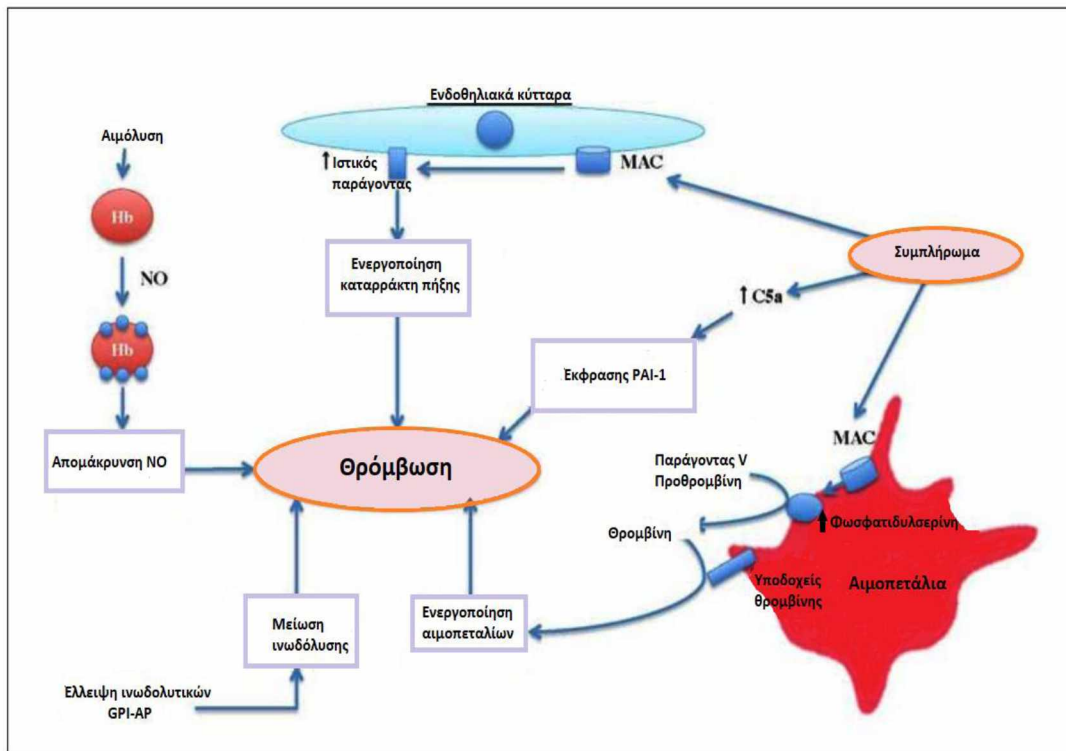
1. είναι νεαρής ηλικίας,
2. παρουσιάζει θρόμβωση σε ασυνήθιστη θέση (π.χ. ενδοκοιλιακές φλέβες, εγκεφαλικές φλέβες, δερματικές φλέβες),
3. έχει στοιχεία αιμόλυσης ή
4. έχει οποιαδήποτε κυτταροπενία.²

Μια συχνή ερώτηση είναι εάν τα φυσιολογικά επίπεδα γαλακτικής δεϋδρογενάσης θα μπορούσαν να αποκλείσουν την παρουσία ΠΝΑ και ως εκ τούτου να μην είναι αναγκαίος ο έλεγχος περιφερικού αίματος με κυτταρομετρία ροής.² Θα πρέπει εδώ να σημειωθεί ότι υπάρχουν σπάνιες καταστάσεις όπου η γαλακτική δεϋδρογενάση μπορεί να μην είναι αυξημένη, όπως στις περιπτώσεις όπου κυριαρχεί ένας τύπου II (μερική ανεπάρκεια των GPI συνδεδεμένων πρωτεϊνών) πληθυσμός ερυθροκυττάρων, όπου η αιμόλυση μπορεί να είναι ελάχιστη, σε ασθενείς που μεταγγίζονται συχνά και σε περιπτώσεις όπου το επεισόδιο θρόμβωσης συμβαίνει σε έναν ασθενή με μικρό κλώνο ΠΝΑ.² Επομένως, ο έλεγχος με κυτταρομετρία ροής θα πρέπει να διενεργείται και σε αυτή την περίπτωση.²

Μηχανισμοί θρόμβωσης στην ΠΝΑ

Ο μηχανισμός της θρόμβωσης στην ΠΝΑ είναι σύνθετος με συνεχές ερευνητικό ενδιαφέρον καθώς η τρέχουσα γνώση είναι ελλιπής.^{2,92} Υπάρχει μια εγγενής σχέση μεταξύ του καταρράκτη της πήξης και του συμπληρώματος γεγονός που αποκαλύπτεται με την κατανόηση κάποιων μηχανισμών που πιστεύεται ότι οδηγούν στην θρόμβωση στην ΠΝΑ (Εικόνα 6).^{2,104}

Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, η αιμόλυση μέσω του συμπληρώματος, η μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα μονοξειδίου του αζώτου, η δυσλειτουργία του ινωδολυτικού συστήματος, και οι φλεγμονώδεις διαμεσολαβητές, είναι όλοι προτεινόμενοι μηχανισμοί που πιστεύεται ότι οδηγούν σε αυξημένο θρομβωτικό κίνδυνο στους ασθενείς με ΠΝΑ.²



Εικόνα 6: Μηχανισμοί θρόμβωσης στην ΠΝΑ.

Η θρόμβωση στην ΠΝΑ είναι πολυπαραγοντική. Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος οδηγεί στο σχηματισμό MAC στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων και των αιμοπεταλίων. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα εκφράζουν ιστικό παράγοντα μετά από τραυματισμό, ο οποίος στη συνέχεια ενεργοποιεί τον καταρράκτη πήξης. Τα αιμοπετάλια δέχονται την επίθεση από MAC με αποτέλεσμα την έκθεση στην επιφάνειά τους φωσφατιδυλσερίνης, οδηγώντας σε συσσώρευση του παράγοντα V, ακολουθούμενη από παραγωγή θρομβίνης. Αυτό το ένζυμο αλληλεπιδρά με υποδοχείς πάνω στα αιμοπετάλια προκαλώντας την ενεργοποίησή τους. Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος οδηγεί σε παραγωγή C5a, που αυξάνει την έκφραση του PAI-1, ενός αναστολέα του ινωδολυτικού συστήματος. Επιπλέον, η λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων απελευθερώνει ελεύθερη αιμοσφαιρίνη (που μειώνει το NO) και αργινάση ερυθροκυττάρων (ένα ένζυμο που προκαλεί την αποδόμηση της αργινίνης, το υπόστρωμα της σύνθεσης NO). Τέλος, η σωστή λειτουργία του ινωδολυτικού συστήματος απαιτεί κάποιες GPI-APs, οι οποίες λείπουν σε ασθενείς με ΠΝΑ (Macedo *ÉS*, Parente Filho *SLA*, Pro *JDZ*, *et al. Renal involvement in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: a brief review of the literature. Rev Assoc Medica Bras* 1992. 2018;64(12):1139-1146. doi:10.1590/1806-9282.64.12.1139-τροποποιημένο).¹⁰⁴

Ενεργοποίηση αιμοπεταλίων

Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων είναι πολύ πιθανό να αποτελεί την κύρια αιτία της υψηλής συχνότητας θρόμβωσης στην ΠΝΑ.^{2,87,105,106} Οι μηχανισμοί που ενδέχεται να οδηγούν στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων σε αυτούς τους ασθενείς είναι πολλοί και αναφέρονται στον Πίνακα 1.²

Πίνακας 1. Αίτια ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων στην ΠΝΑ²

- | |
|---|
| 1. Διαμέσω του συμπληρώματος λόγω απώλειας CD59 και παρουσίας C5b-9 στην κυτταρική επιφάνεια |
| 2. Ένδεια NO |
| 3. Άμεση επίδραση της ελεύθερης αιμοσφαιρίνης |
| 4. Αυξημένα επίπεδα αντιδραστικών μορφών οξυγόνου |
| 5. Δυσλειτουργία του ενδοθηλίου |
| 6. Ενεργοποίηση της θρομβίνης |

Ενδοαγγειακή αιμόλυση: ένδεια NO, τοξικότητα ελεύθερης αιμοσφαιρίνης και ερυθροκυτταρικών μικροσωματιδίων

Τα θρομβωτικά συμβάντα έχουν συσχετιστεί με αυξημένη αιμόλυση^{2,59,89,99,107} και η ενδοαγγειακή αιμόλυση είναι πολύ πιθανό να αποτελεί ένα βασικό παράγοντα για τα θρομβοεμβολικά επεισόδια σε αυτό το νόσημα.^{2,108,109} Οι πολλαπλοί μηχανισμοί με τους οποίους η ενδοαγγειακή αιμόλυση μπορεί να συμβάλει στη θρόμβωση συνοψίζονται στον Πίνακα 2.²

Πίνακας 2. Συνέπειες της ενδοαγγειακής αιμόλυσης στο μηχανισμό θρόμβωσης στην ΠΝΑ²

1. Απελευθέρωση ελεύθερης αιμοσφαιρίνης με αποτέλεσμα:
α. Ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων
β. Θρομβοφλεβίτιδα
γ. Ένδεια του NO με αποτέλεσμα:
i. Αγγειοσυστολή
ii. Ενεργοποίηση και συσσωμάτωση αιμοπεταλίων
iii. Αυξημένη έκφραση μορίων προσκόλλησης
iv. Έκκριση προπηκτικών πρωτεϊνών
v. Ισχαιμία - βλάβη επαναιμάτωσης
vi. Ενδοθηλιακός πολλαπλασιασμός
vii. Αυξημένοι δείκτες φλεγμονής
viii. Ενεργοποίηση του παράγοντα XIII
ix. Αυξημένα επίπεδα του συμπλόκου θρομβίνης-αντιθρομβίνης και προϊόντων αποδόμησης του ινώδους
δ. Αναστολή της ADAMTS13
ε. Άμεση ενδοθηλιακή δυσλειτουργία
ζ. Ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων και απελευθέρωση μικροσωματιδίων
η. Αυξημένα επίπεδα ιστικού παράγοντα
θ. Αυξημένα επίπεδα αντιδραστικών μορφών οξυγόνου
2. Απελευθέρωση αργινάσης με αποτέλεσμα την ένδεια NO
3. Απελευθέρωση προπηκτικών μικροσωματιδίων από τα ερυθροκύτταρα

Ανεπάρκεια άλλων GPI συνδεδεμένων πρωτεϊνών: uPAR (CD87), TFPI

Η uPAR (urokinase plasminogen activator receptor: CD87) είναι μια GPI-συνδεδεμένη πρωτεΐνη και επομένως ανεπαρκεί στα ΠΝΑ μονοκύτταρα και κοκκιοκύτταρα.¹⁴ Η uPAR φυσιολογικά μετατρέπει το πλασμινογόνο σε πλασμίνη και οδηγεί σε αποδόμηση του ινώδους.¹⁴ Είναι λοιπόν πιθανό, η ανεπάρκεια του CD87 στην επιφάνεια των ΠΝΑ κυττάρων να οδηγεί σε αυξημένη τάση για θρόμβωση ως αποτέλεσμα της μειωμένης ινωδόλυσης και θρομβόλυσης.^{14,110} Η απουσία σύνδεσης του CD87 στην κυτταρική μεμβράνη, έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση του διαλυτού CD87 στο πλάσμα, το οποίο πιστεύεται ότι συμβάλλει στον αυξημένο κίνδυνο φλεβικής θρόμβωσης μέσω του ανταγωνισμού με το CD87 το οποίο είναι συνδεδεμένο στην μεμβράνη.^{14,110,111} Αυτός ο μηχανισμός μπορεί να ενισχύσει τη θρόμβωση αλλά είναι απίθανο να αποτελεί τη μοναδική αιτία θρόμβωσης στην ΠΝΑ.¹⁴ Ο αναστολέας της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI - Tissue Factor Pathway Inhibitor) απελευθερώνεται κυρίως από το ενδοθήλιο (αλλά υπάρχει και στην επιφάνεια των μονοκυττάρων, εντός των αιμοπεταλίων και στο πλάσμα) και είναι συνδεδεμένος, πιθανότατα έμμεσα, μέσω GPI άγκυρας.^{14,112} Αποτελεί μια ισχυρή αντιπηκτική πρωτεΐνη, αναστέλλοντας τον παράγοντα Χα και το σύμπλεγμα ιστικού παράγοντα (TF - Tissue Factor) - παράγοντα VIIa, καθιστώντας τον τον μόνο φυσιολογικά ενεργό αναστολέα της εξωγενούς οδού της πήξης.¹⁴ Έχει υποτεθεί ότι η μειωμένη έκφραση ή δράση του TFPI, ενδεχομένως να συμβάλλει τόσο στην αρτηριακή όσο και στη φλεβική θρόμβωση στην ΠΝΑ.^{14,112}

Ενδοθηλιακή δυσλειτουργία

Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία εμφανίζεται κατά τη διάρκεια οποιουδήποτε θρομβωτικού συμβάντος.² Ο TF εκφράζεται σε υπενδοθηλιακά τοιχωματικά κύτταρα και στους ινοβλάστες του αγγειακού τοιχώματος και συνδέεται με την πήξη και με τον καταρράκτη του συμπληρώματος.² Το ενδοθήλιο έχει επίσης συσχετισθεί με την παθογένεση της θρόμβωσης σε αιμολυτικές καταστάσεις,^{2,101,102} καθώς η ελεύθερη αιμοσφαιρίνη βλάπτει άμεσα την ενδοθηλιακή λειτουργία.² Η ελεύθερη αιμοσφαιρίνη και το οξειδωτικό προϊόν διάσπασής της, η αίμη, μπορεί να ενεργοποιήσει άμεσα τα ενδοθηλιακά κύτταρα και να προάγει τη φλεγμονή και την πήξη καθώς και την αύξηση της παραγωγής του TF και την απελευθέρωση του υψηλού μοριακού βάρους, παράγοντα von Willebrand (vWF - von Willebrand Factor).² Τα μικροσωματίδια αυξάνονται στο πλάσμα στην ΠΝΑ με αποτέλεσμα την έκφραση ενδοθηλιακών

δεικτών: ICAM-1 (CD54), sVCAM-1, vWF, CD144 (VE-cadherin) και CD105 (endoglin), υποδεικνύοντας χρόνια ενδοθηλιακή ενεργοποίηση στην ΠΝΑ.² Το CD144, όπως και το CD105, προέρχονται από έναν υποπληθυσμό ενδοθηλιακών κυτταρικών συνδέσεων, έχουν πολύ μικρό χρόνο ημίσειας ζωής στην κυκλοφορία και ως εκ τούτου, η παρουσία τους στο πλάσμα υποδεικνύει συνεχή ενδοθηλιακή βλάβη που σχετίζεται με τη χρόνια αιμόλυση στην ΠΝΑ.^{2,113,114}

Άλλοι προπηκτικοί μηχανισμοί μέσω του συμπληρώματος (ανεξάρτητοι από την αιμόλυση)

Εκτός από τους μηχανισμούς που σχετίζονται με την ενδοαγγειακή αιμόλυση και συμβάλλουν στη θρόμβωση, υπάρχουν και μηχανισμοί που μπορεί να συμβάλλουν στη θρομβογένεση και είναι ανεξάρτητοι από την αιμόλυση όπως συνοπτικά αναφέρονται στον Πίνακα 3.²

Πίνακας 3. Προτεινόμενοι μηχανισμοί θρόμβωσης στην ΠΝΑ, ανεξάρτητοι από την αιμόλυση²

1. Ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων
2. Ανεπάρκεια uPAR
3. Ανεπάρκεια θεϊκής ηπαράνης
4. Ανεπάρκεια TFPI
5. Ανεπάρκεια πρωτεΐνης 3
6. Ενεργοποίηση ενδοθηλιακών κυττάρων
7. Μηχανισμοί μέσω του C5a
α. Αύξηση φλεγμονωδών κυτταροκινών
β. Μείωση της ADAMS13
8. Παραγωγή TF και PAI1 από τα ΠΝΑ μονοκύτταρα και ουδετερόφιλα
9. Μειωμένα επίπεδα πρωτεΐνης S
10. Αντίσταση στην πρωτεΐνη C λόγω αυξημένης δραστηριότητας του παράγοντα VIII
11. Ενεργοποίηση της θρομβίνης του συστήματος του συμπληρώματος που διαιωρίζει τους παραπάνω μηχανισμούς

Θεραπεία οξείας θρόμβωσης

Ένα θρομβωτικό επεισόδιο σε έναν ασθενή με ΠΝΑ χρήζει επείγουσας θεραπευτικής αντιμετώπισης λόγω υψηλής πιθανότητας θανατηφόρου έκβασης ή σημαντικής αναπηρίας και ταχείας επιδείνωσης που συμβαίνει συχνά.² Ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δοθεί στην ισορροπία μεταξύ αιμορραγίας και της υψηλής θρομβοφιλικής τάσης.² Η πλήρης αντιπηκτική αγωγή με κλασική ηπαρίνη ή ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους εξακολουθεί να είναι η βέλτιστη άμεση αντιμετώπιση που θα πρέπει να εφαρμοστεί σε περίπτωση οξείας θρόμβωσης.¹³ Επίσης, η θεραπεία με eculizumab ή ravulizumab θα πρέπει να ξεκινήσει το συντομότερο δυνατό για να αποφευχθούν άλλα επεισόδια θρόμβωσης καθώς η αντιπηκτική αγωγή από μόνη της δεν επαρκεί για τον μακροπρόθεσμο έλεγχο της θρόμβωσης.^{13,45} Για την μακροπρόθεσμη αντιπηκτική αγωγή συνιστώνται οι ανταγωνιστές της βιταμίνης Κ εάν δεν υπάρχουν αντενδείξεις. Τα άμεσα δρώντα από του στόματος αντιπηκτικά είναι πιθανώς ισοδύναμα αλλά δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς στην ΠΝΑ.¹³ Υπάρχουν αναφορές ότι με την έναρξη της θεραπείας με ηπαρίνη, η αιμόλυση μπορεί να επιδεινωθεί καθώς σε χαμηλές δόσεις ενεργοποιεί την εναλλακτική οδό του συμπληρώματος.² Ωστόσο, η ανησυχία για την επιδείνωση της αιμόλυσης από ηπαρίνη δεν θα πρέπει να αποτρέπει τη χρήση της στις καθορισμένες δόσεις όπου αυτή απαιτείται.¹⁴

Πρόληψη της θρόμβωσης

Η πρόληψη της θρόμβωσης στην ΠΝΑ αποτελεί ένα σημαντικό στόχο στη διαχείριση των ασθενών και αναμένεται να οδηγήσει σε μείωση τόσο της νοσηρότητας όσο και της θνητότητας.² Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος προκαλεί μεταβολές στη μεμβράνη των ΠΝΑ ερυθροκυττάρων δίνοντάς τους προπηκτικές ιδιότητες.^{2,115} Η χρήση της ηπαρίνης και της ηπαρίνης χαμηλού μοριακού βάρους με στόχο την αναστολή της μέσω του συμπληρώματος λύσης αυτών των κυττάρων, δεν είχε ως αποτέλεσμα και την αναστολή των μέσω του συμπληρώματος προπηκτικών τροποποιήσεων της μεμβράνης τους.^{2,116} Αυτό υποδηλώνει ότι ο βασικός μηχανισμός δράσης της ηπαρίνης σε αυτή την περίπτωση γίνεται μέσω της αλληλεπίδρασης με το C5b-9 και όχι μέσω της ενίσχυσης της αναστολής του C1.² Υπήρξαν αναφορές για αυξημένη επίπτωση θρομβοπενίας από ηπαρίνη και επακόλουθη θρόμβωση,^{2,117-119} γεγονός που θεωρητικά εξηγείται από

την αύξηση της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων στη ΠΝΑ με απελευθέρωση του παράγοντα 4 των αιμοπεταλίων.² Θεωρητικά, σε αυτή την περίπτωση η χρήση του fondaparinux μπορεί να είναι ασφαλέστερη.² Σε ασθενείς που δεν λαμβάνουν θεραπεία με eculizumab, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη το ενδεχόμενο πρωτογενούς αντιπηκτικής προφύλαξης για τη μείωση του κινδύνου θρόμβωσης εάν δεν υπάρχουν αντενδείξεις, όπως θρομβοπενία ή άλλος κίνδυνος αιμορραγίας.^{2,89} Όσον αφορά τα αντιαιμοπεταλιακά φάρμακα, όπως η ασπιρίνη ή η κλοπιδογρέλη, και βασιζόμενοι στο μηχανισμό με τον οποίο προκαλείται η θρόμβωση, είναι απίθανο να ωφελήσουν και πάλι αυξάνοντας τον κίνδυνο αιμορραγίας, αλλά θα πρέπει να σημειωθεί ότι δεν υπάρχουν σχετικές μελέτες.² Καθώς ο μηχανισμός της θρόμβωσης στην ΠΝΑ φαίνεται να οφείλεται στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων μέσω του συμπληρώματος, στην ενδοαγγειακή αιμόλυση και στην απελευθέρωση ελεύθερης αιμοσφαιρίνης με όλα τα επακόλουθα αποτελέσματά της, καθώς και σε μηχανισμούς μέσω του C5a, είναι λογικό να αναμένεται ότι ο αποκλεισμός του συμπληρώματος θα πρέπει να εξαλείψει τον κίνδυνο θρόμβωσης, παρόλο που δεν υπάρχουν δεδομένα από κάποια προοπτική κλινική δοκιμή.² Φαίνεται, λοιπόν, ότι το eculizumab παίζει σημαντικό ρόλο στη διαχείριση της θρόμβωσης στην ΠΝΑ, μειώνοντας τα θρομβοεμβολικά επεισόδια.^{2,22,45,72,73,120,121} Ένα άλλο σημαντικό ερώτημα είναι αν η αντιπηκτική αγωγή μπορεί να διακοπεί με ασφάλεια σε ασθενείς με ΠΝΑ που είχαν κάποιο επεισόδιο θρόμβωσης και βρίσκονται υπό θεραπεία με eculizumab.² Σε αυτή την ομάδα ασθενών φαίνεται συνετή η συνέχιση της αντιπηκτικής αγωγής, εκτός εάν υπάρχουν σαφείς αντενδείξεις ή έως ότου υπάρξουν περισσότερα δεδομένα για την ασφαλή διακοπή της αντιπηκτικής θεραπείας.²

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 2 – Μεθοδολογία

2.1 Σχεδιασμός αναδρομικής μελέτης

Πρόκειται για μια αναδρομική μελέτη που διενεργείται για πρώτη φορά στην Ελλάδα. Ο σχεδιασμός της μελέτης είχε δύο στάδια: 1. Την αναδρομική καταγραφή ασθενών με ΠΝΑ από τα περισσότερα αιματολογικά κέντρα της Ελλάδας, 2. Την ανάλυση δεδομένων που αφορούν τα θρομβωτικά επεισόδια που εμφάνισαν οι καταγεγραμμένοι ασθενείς. Μέχρι σήμερα συμμετείχαν 9 αιματολογικά κέντρα από όλα τα διαμερίσματα της Ελλάδας και έγινε καταγραφή 34 ασθενών. Συγκεκριμένα, 4 ασθενείς προέρχονται από το αιματολογικό τμήμα της Α΄ παθολογικής κλινικής του Π.Γ.Ν. «ΑΧΕΠΑ» Θεσσαλονίκης, 1 ασθενής από το Γ.Ν. «Ιπποκράτειο» Θεσσαλονίκης, 6 ασθενείς από το Γ.Ν. «Γ. Παπανικολάου» Θεσσαλονίκης, 8 ασθενείς από το Γ.Ν. «Λαϊκό» Αθηνών, 8 ασθενείς από το Γ.Ν. «Ο Ευαγγελισμός» Αθηνών, 2 ασθενείς από το Π.Γ.Ν. «Αττικόν» Αθηνών, 1 ασθενής από το Γ.Ν. «Γ. Γεννηματάς» Αθηνών, 3 ασθενείς από το Γ.Ν. Πατρών και 1 ασθενής από το Πα.Γ.Ν. Ηρακλείου Κρήτης.

2.2 Στόχος της μελέτης

Στόχος της μελέτης είναι η αναδρομική ανάλυση των δεδομένων ασθενών με ΠΝΑ, όπως αυτά έχουν καταγραφεί, και αφορούν τις θρομβωτικές εκδηλώσεις που εμφάνισαν οι καταγεγραμμένοι ασθενείς. Η ανάλυση περιλαμβάνει: την εκτίμηση της συχνότητας των επεισοδίων, τη χρονική στιγμή εμφάνισής τους στην πορεία της νόσου, τις αγγειακές εντοπίσεις και τους παράγοντες που μπορεί να συσχετιστούν με την εκδήλωσή τους.

2.3 Κριτήρια ένταξης ασθενών και κριτήρια αποκλεισμού

Όλοι οι ασθενείς, ανεξαρτήτου ηλικίας, με διάγνωση ΠΝΑ (με οποιαδήποτε εφαρμόσιμη διαγνωστική μέθοδο) συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη. Δεν τέθηκαν κριτήρια αποκλεισμού από τη μελέτη.

2.4 Μεθοδολογία μελέτης και εξαγωγής δεδομένων

Το πρώτο βήμα στην παρούσα μελέτη ήταν η αναδρομική καταγραφή των ασθενών με ΠΝΑ από αιματολογικά κέντρα της Ελλάδας, με αναδρομικό χαρακτήρα και στη συνέχεια προοπτικό. Για την καταγραφή εφαρμόστηκε η πλατφόρμα Excel. Τα δεδομένα που καταγράφηκαν περιλαμβάνουν: τα δημογραφικά στοιχεία των ασθενών, συννοσηρότητες, συμπτώματα κατά τη διάγνωση, μέγεθος κλώνου ΠΝΑ, τύπος ΠΝΑ, θρομβωτικά επεισόδια και χαρακτηριστικά τους, ανάγκη μεταγγίσεων, θεραπευτική προσέγγιση (ειδική για τη νόσο και μη) και έκβαση. Τα εργαστηριακά δεδομένα που καταγράφηκαν περιλαμβάνουν: γενική αίματος, ΔΕΚ, γαλακτική δεϋδρογενάση, παραμέτρους νεφρικής και ηπατικής λειτουργίας, επίπεδα d-dimer και άλλα εργαστηριακά δεδομένα. Για τους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με eculizumab καταγράφηκαν: ο χρόνος έναρξης, οι δόσεις και η ανάγκη προσαρμογής τους, ο εμβολιασμός για μηνιγγιτιδόκοκκο, η διακοπή θεραπείας, οι αιτίες διακοπής και η ανταπόκριση στη θεραπεία. Με στόχο την ανάλυση των θρομβωτικών επεισοδίων καταγράφηκαν επίσης: η αντιθρομβωτική αγωγή (πρωτογενής ή δευτερογενής πρόληψη), το είδος της αντιπηκτικής αγωγής, και η αντιαιμοπεταλιακή αγωγή. Η καταγραφή και η επεξεργασία των δεδομένων έγιναν σε απόλυτη συμφωνία με τις επιταγές του ιατρικού απορρήτου.

2.5 Ορισμοί

Παροξυσμική Νυχτερινή Αιμοσφαιρινουρία

Η Παροξυσμική Νυχτερινή Αιμοσφαιρινουρία είναι μια σπάνια, επίκτητη, κλωνική διαταραχή των αρχέγονων αιματοποιητικών κυττάρων, τα οποία στην πλειοψηφία των περιπτώσεων φέρουν μια σωματική μετάλλαξη στο γονίδιο *PIGA* και εκδηλώνεται με χρόνια αιμολυτική αναιμία, θρομβοφιλική κατάσταση και μυελική ανεπάρκεια.¹³

Φάσμα θρομβωτικών επεισοδίων στην ΠΝΑ

Όλες οι μορφές και οι θέσεις εντόπισης θρόμβωσης που παρατηρήθηκαν στους ασθενείς με ΠΝΑ. Περιλαμβάνουν τόσο τις φλεβικές όσο και τις αρτηριακές θρομβώσεις.

Σύνδρομο Budd-Chiari

Το σύνδρομο Budd-Chiari είναι μια ασυνήθης διαταραχή που ορίζεται ως απόφραξη της ηπατικής φλεβικής εκροής, η οποία είναι ανεξάρτητη από το επίπεδο ή

τον μηχανισμό της απόφραξης, εφόσον η απόφραξη δεν οφείλεται σε περικαρδιακή νόσο, καρδιακή νόσο ή φλεβοαποφρακτική νόσο των μικρών ηπατικών φλεβών.¹²² Το πρωτοπαθές σύνδρομο Budd-Chiari ορίζεται ως απόφραξη λόγω μιας πρωτοπαθούς φλεβικής βλάβης (θρόμβωση ή φλεβίτιδα), ενώ το δευτεροπαθές ορίζεται ως συμπίεση ή προσβολή των ηπατικών φλεβών ή της κάτω κοίλης φλέβας από μια βλάβη που προέρχεται έξωθεν της φλέβας (π.χ. κακοήθεια).¹²²

2.6 Στατιστική ανάλυση

Η καταγραφή, η στατιστική ανάλυση και η επεξεργασία των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του προγράμματος Excel, της πλατφόρμας Microsoft Office, της εταιρείας Microsoft. Η περιγραφή των ποιοτικών μεταβλητών έγινε με τη χρήση της απόλυτης (n) και της σχετικής συχνότητας (%). Η περιγραφή των ποσοτικών μεταβλητών έγινε με χρήση της διάμεσης (median) και της μέσης (mean) τιμής. Για κάθε αποτέλεσμα ενδιαφέροντος πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις μόνο στους ασθενείς που υπήρχαν διαθέσιμα δεδομένα.

Κεφάλαιο 3 - Αποτελέσματα

3.1 Χαρακτηριστικά ασθενών της μελέτης

Από την έναρξη της μελέτης τον Μάιο του 2020 μέχρι τον Απρίλιο του 2021 καταγράφηκαν 34 ασθενείς με ΠΝΑ. Οι ασθενείς αυτοί διαγνώστηκαν σε 9 αιματολογικά κέντρα της Ελλάδας από το 1988 μέχρι σήμερα. Από τους 34 ασθενείς, οι 15 ήταν γυναίκες (44%) και οι 19 άνδρες (56%). Εικοσιεπτά (79%) ασθενείς ήταν ελληνικής καταγωγής ενώ οι υπόλοιποι είχαν διαφορετική καταγωγή και συγκεκριμένα, 2 (6%) ασθενείς ήταν από το Αφγανιστάν, 2 (6%) ασθενείς από την Αλβανία, 1 (3%) ασθενής από την Εσθονία, 1 (3%) ασθενής από το Πακιστάν και 1 (3%) ασθενής από την Κίνα. Η διάμεση ηλικία για το σύνολο των ασθενών, κατά την διάγνωση, ήταν 32,5 έτη (εύρος 11 – 82 έτη) και ο μέσος όρος ηλικίας ήταν 36,6 έτη. Η διάμεση ηλικία των ανδρών ήταν 35 έτη ενώ των γυναικών ήταν 30 έτη. Ο μέσος όρος ηλικίας ήταν 36,6 έτη τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες (Πίνακας 4).

Πίνακας 4. Δημογραφικά χαρακτηριστικά ασθενών

Χαρακτηριστικά	Συνολικός πληθυσμός μελέτης (n=34) n (%)
Φύλο	
Άρρεν	19 (56%)
Θήλυ	15 (44%)
Καταγωγή	
Ελλάδα	27 (79%)
Αφγανιστάν	2 (6%)
Αλβανία	2 (6%)
Κίνα	1 (3%)
Εσθονία	1 (3%)
Πακιστάν	1 (3%)
Ηλικία κατά τη διάγνωση	Έτη
Μέση	36,6
Διάμεση	32,5
Μέση αρρένων	36,6
Διάμεση αρρένων	35
Μέση θηλέων	36,6
Διάμεση θηλέων	30

Η διάμεση τιμή της αιμοσφαιρίνης των ασθενών κατά τη διάγνωση ήταν 8,95 g/dl, η διάμεση τιμή των αιμοπεταλίων $116 \times 10^9/L$ και η διάμεση τιμή των δικτυοερυθροκυττάρων ήταν $11,4 \times 10^4/uL$. Οι διάμεσες τιμές της γαλακτικής δεϋδρογενάσης, της φερριτίνης και της ολικής χολερυθρίνης κατά τη διάγνωση ήταν 955 U/L, 58 ng/mL και 1,03 mg/dl αντίστοιχα (Πίνακας 5).

Πίνακας 5. Εργαστηριακά ευρήματα κατά τη διάγνωση

Παράμετρος, (μονάδα μέτρησης)	Συνολικός πληθυσμός μελέτης (n=34) Διάμεση τιμή
Αιμοσφαιρίνη Hgb (g/dl)	8,95
Απόλυτος αριθμός ΔΕΚ ($\times 10^4/uL$)	11,4
Αριθμός αιμοπεταλίων ($\times 10^9/L$)	116
Γαλακτική δεϋδρογενάση LDH (U/L)	955
Φερριτίνη (ng/mL)	58
Ολική χολερυθρίνη (mg/dl)	1,03

Από τους 34 ασθενείς, 19 (56%) διαγνώστηκαν με κλασική μορφή ΠΝΑ, και 14 (42%) εμφάνισαν ΠΝΑ σε έδαφος άλλης πρωτοπαθούς διαταραχής του μυελού των οστών. Από τους τελευταίους, 26,6% είχε ιστορικό απλαστικής ή υποπλαστικής αναιμίας κατά την διάγνωση. Η απλαστική αναιμία αφορούσε 7 (20,6%) ασθενείς, 2 (6%) ασθενείς είχαν ΜΔΣ, 2 (6%) ασθενείς είχαν διάγνωση πρωτοπαθούς μυελοϊνώσεως, 1 (2,94%) ασθενής είχε αληθή πολυκυτταραιμία, 1 (2,94%) ασθενής είχε β-μεσογειακή αναιμία και 1 (2,94%) ασθενής είχε διάγνωση χρόνιας λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας. Το διάμεσο μέγεθος του κλώνου των κοκκιοκυττάρων με ανεπάρκεια GPI ήταν 60%, και 80% του κλώνου των μονοκυττάρων, ενώ η διάμεση τιμή του κλώνου των ερυθρών τύπου II και III, ήταν 7% και 15% αντίστοιχα. Συνολικά, 58,8% (20/34) των ασθενών είχαν ιστορικό μεταγίσεων ερυθρών, ενώ 14,7% (5/34) είχαν ιστορικό ανάγκης μεταγίσεων αιμοπεταλίων (Πίνακας 6).

Πίνακας 6. Χαρακτηριστικά της νόσου - συννοσηρότητες

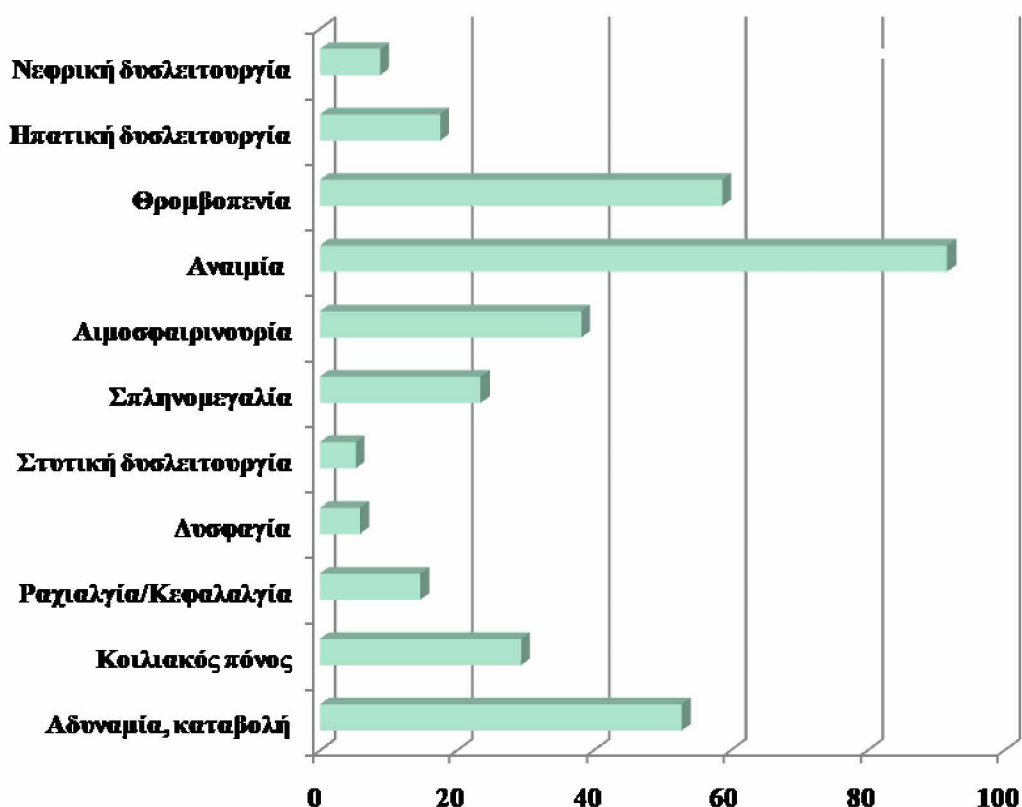
Κατηγορία ΠΝΑ	Συνολικός πληθυσμός μελέτης (n=34) n (%)
Κλασική ΠΝΑ	19 (56)
ΠΝΑ σε έδαφος άλλων πρωτοπαθών διαταραχών του μυελού των οστών	14 (42)
Υποκείμενο νόσημα	n (%)
Απλαστική αναιμία	7 (20,6)
ΜΔΣ	2 (6)
Πρωτοπαθής Μυελοϊνώση	2 (6)
Αληθής Πολυκυτταραιμία	1 (2,94)
Β-Μεσογειακή αναιμία	1 (2,94)
Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία	1 (2,94)
Μέγεθος κλώνου ΠΝΑ	Διάμεση τιμή (%)
Μέγεθος κλώνου μονοκυττάρων	80
Μέγεθος κλώνου κοκκιοκυττάρων	60
Μέγεθος κλώνου ερυθρών type II	7
Μέγεθος κλώνου ερυθρών type III	15
Ανάγκη μεταγγίσεων	n (%)
Ερυθρών	20 (58,8)
Αιμοπεταλίων	5 (14,7)

Οι περισσότεροι ασθενείς ανέφεραν συμπτώματα και εκδηλώσεις που σχετίζονται με ΠΝΑ κατά τη διάγνωση. Τα κύρια συμπτώματα ήταν: αδυναμία/καταβολή (52,9% [18/34]), κοιλιακό άλγος (29,4% [10/34]), αιμοσφαιρινουρία (38,2% [13/34]), ραχιαλγία/κεφαλαλγία (14,7% [5/34]), δυσφαγία (5,88% [2/34]) και στυτική δυσλειτουργία (5,26% [1/19 άνδρες]). Σπληνομεγαλία παρατηρήθηκε στο 23,5% (8/34) των ασθενών, ενώ η ηπατική και νεφρική δυσλειτουργία διαπιστώθηκε στο 17,6% (6/34) και 8,82% (3/34) των ασθενών αντίστοιχα. Το 91,17% (31/34) των ασθενών είχε αναιμία κατά τη διάγνωση, ενώ θρομβοπενία παρατηρήθηκε στο 58,8% (20/34) των ασθενών (Πίνακας 7, Εικόνα 7).

Πίνακας 7. Σημεία και συμπτώματα κατά τη διάγνωση

Παράμετρος	Συνολικός πληθυσμός μελέτης (n=34) n (%)
Αδυναμία, καταβολή	18 (52,9)
Κοιλιακός πόνος	10 (29,4)
Ραχιαλγία και Κεφαλαλγία	3 και 2 (14,7)
Δυσφαγία	2 (5,88)
Στυτική δυσλειτουργία	1 (5,26)
Σπληνομεγαλία	8 (23,5)
Αιμοσφαιρινουρία	13 (38,2)
Αναιμία	31 (91,7)
Θρομβοπενία	20 (58,8)
Ηπατική δυσλειτουργία	6 (17,6)
Νεφρική δυσλειτουργία	3 (8,82)

Σημεία και συμπτώματα κατά τη διάγνωση



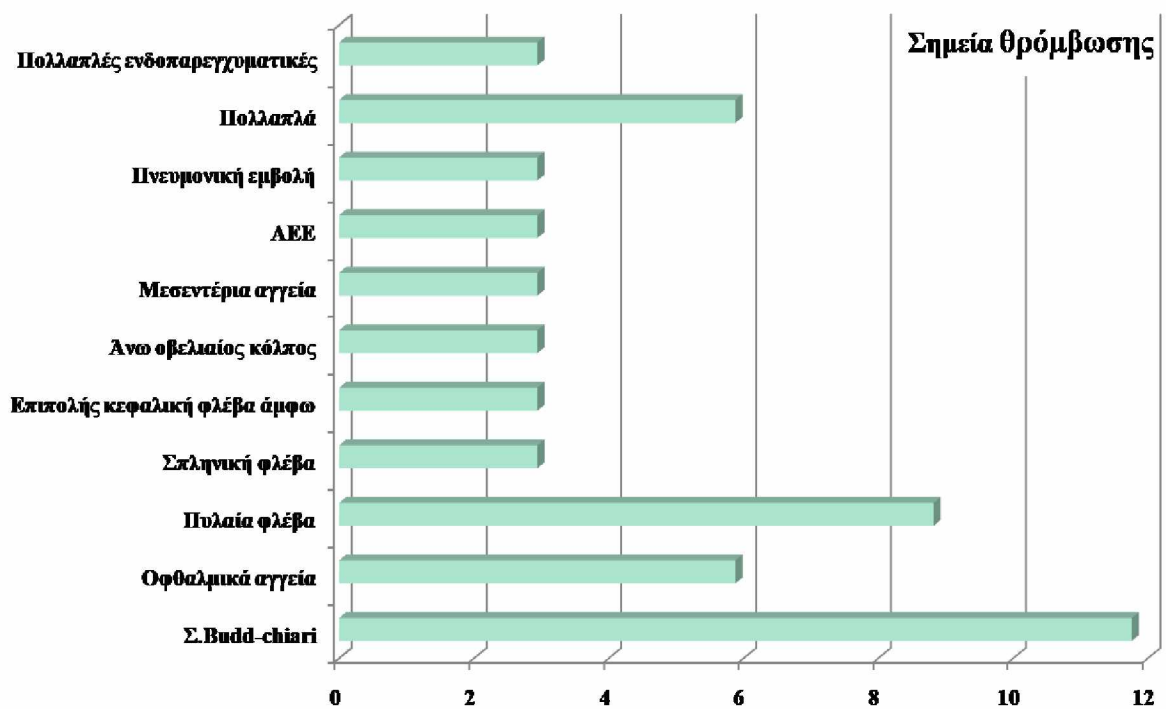
Εικόνα 7: Σημεία και συμπτώματα κατά τη διάγνωση (%).

3.2 Σύνοψη αποτελεσμάτων

Συνολικά, 12 (35,29%) ασθενείς από τους 34 εμφάνισαν κάποιο επεισόδιο θρόμβωσης κατά τη διάρκεια της νόσου, με υπεροχή των φλεβικών θρομβώσεων. Συγκεκριμένα, 7 ασθενείς εμφάνισαν θρομβωτικό επεισόδιο κατά τη διάγνωση και 2 ασθενείς ενώ ήταν υπό ειδική θεραπεία με ecilizumab για την ΠΝΑ. Όσον αφορά την εντόπιση της θρόμβωσης, 4 ασθενείς εμφάνισαν σύνδρομο Budd-Chiari, 3 ασθενείς διαγνώστηκαν με θρόμβωση πυλαίας φλέβας, 2 ασθενείς είχαν θρόμβωση σε αγγεία των οφθαλμών με σημαντικές διαταραχές της όρασης. Οι αρτηριακές θρομβώσεις αφορούσαν 3 από τους 12 ασθενείς. Συγκεκριμένα, ένας ασθενής παρουσίασε ΑΕΕ κατά τη διάγνωση, ένας ασθενής είχε επεισόδιο πνευμονικής εμβολής και ένας ασθενής εμφάνισε θρόμβωση της κεντρικής αρτηρίας του αριστερού οφθαλμού. Δύο από τους ασθενείς της μελέτης παρουσίασαν πολλαπλά επεισόδια θρόμβωσης κατά τη διάρκεια της νόσου (Πίνακας 8, Εικόνα 8). Στους ασθενείς με θρομβωτικό συμβάν, το διάμεσο μέγεθος του κλώνου των κοκκιοκυττάρων ήταν 58% (εύρος 2,55 - 91,8%), ενώ το διάμεσο μέγεθος του κλώνου των μονοκυττάρων ήταν 81% (εύρος 4,57 - 91,2%).

Πίνακας 8. Επεισόδια θρόμβωσης

Παράμετρος	Σύνολο ασθενών (n=34)	Ασθενείς με θρομβωτικό επεισόδιο (n=12)
Επίπτωση Θρόμβωσης, (%)	35.29	
Κλώνος κοκκιοκυττάρων, διάμεση τιμή (%)		58 (εύρος 2,55 - 91,8)
Κλώνος μονοκυττάρων, διάμεση τιμή (%)		81 (εύρος 4,57 - 91,2)
	n (%)	n (%)
Σημείο Θρόμβωσης		
Σ.Budd-Chiari	4 (11,76)	4 (33,33)
Οφθαλμικά αγγεία	2 (5,88)	2 (16,66)
Πυλαία φλέβα	3 (8,82)	3 (25)
Σπληνική φλέβα	1 (2,94)	1 (8,33)
Επιπολής κεφαλική φλέβα αμφοτερόπλευρα	1 (2,94)	1 (8,33)
Άνω οβελιαίος κόλπος	1 (2,94)	1 (8,33)
Μεσεντέρια αγγεία	1 (2,94)	1 (8,33)
ΑΕΕ	1 (2,94)	1 (8,33)
Πνευμονική εμβολή	1 (2,94)	1 (8,33)
Πολλαπλά	2 (5,88)	2(16,66)
Πολλαπλές ενδοπαρεγχυματικές (ήπαρ, σπλήνας, αριστερός νεφρός)	1 (2,94)	1 (8,33)
Είδος θρόμβωσης		
Φλεβικές θρομβώσεις	9 (26,47)	9 (75)
Αρτηριακές θρομβώσεις	3 (8,82)	3 (25)
Χρονική στιγμή θρόμβωσης		
κατά τη διάγνωση	7 (20,58)	7 (58,33)
υπό ειδική θεραπεία για την ΠΝΑ	2 (5,88)	2 (16,66)



Εικόνα 8: Σημεία θρόμβωσης. Ποσοστό (%) επί του συνόλου των ασθενών της μελέτης (n=34).

Από τους ασθενείς που παρουσίασαν κάποιο επεισόδιο θρόμβωσης, 8 (66,67%) είχαν κλασική ΠΝΑ, ενώ οι υπόλοιποι είχαν ΠΝΑ σε έδαφος κάποιου άλλου υποκείμενου νοσήματος. Συγκεκριμένα, ένας (8,33%) ασθενής είχε ΑΑ, ένας (8,33%) είχε β-μεσογειακή αναιμία, ένας (8,33%) ασθενής είχε πρωτοπαθή μυελοϊνώση και ένας (8,33%) ασθενής είχε αληθή πολυκυτταραιμία. Η συχνότητα εμφάνισης θρομβωτικών επεισοδίων ήταν ίδια μεταξύ ανδρών και γυναικών. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε 8 (66,67%) ασθενείς που εμφάνισαν κάποιο επεισόδιο θρόμβωσης κατά την πορεία της νόσου, το μέγεθος του κλώνου των κοκκιοκυττάρων ήταν μεγαλύτερο του 50%. Κανένας από τους ασθενείς δεν είχε λάβει πρωτογενή αντιπηκτική αγωγή. Όσον αφορά τη δευτερογενή αντιπηκτική θεραπεία που χορηγήθηκε στους ασθενείς μετά το θρομβωτικό επεισόδιο, αυτή ήταν χαμηλού μοριακού βάρους ηπαρίνη (ΧΜΒΗ) στην πλειονότητα των ασθενών ενώ 4 ασθενείς έλαβαν ασενοκουμαρόλη μετά από μια σύντομη περίοδο αγωγής με ΧΜΒΗ. Για κανέναν από τους 12 ασθενείς με επεισόδιο θρόμβωσης δεν έχει σημειωθεί θανατηφόρα έκβαση του συμβάντος. Ένας μόνο ασθενής κατέληξε 1,5 έτος μετά το επεισόδιο της θρόμβωσης από άλλο αίτιο (σήψη). Όσον αφορά την ειδική θεραπεία για την ΠΝΑ, 2 (16,66%) ασθενείς ήταν υπό θεραπεία με eculizumab τη χρονική στιγμή της θρόμβωσης ενώ 4 (33,34%) ασθενείς τέθηκαν σε θεραπεία με αυτό μετά το επεισόδιο της θρόμβωσης σε συμφωνία με τις διεθνείς συστάσεις (Πίνακας 9).

Πίνακας 9. Χαρακτηριστικά ασθενών με θρόμβωση

Παράμετρος	Ασθενείς με θρομβωτικό επεισόδιο (n=12) n (%)
Κατηγορία ΠΝΑ	
Κλασική	8 (66,67)
Υποκείμενο νόσημα	
<ul style="list-style-type: none"> • ΑΑ • Αληθής Πολυκυτταραιμία • Πρωτοπαθής Μυελοϊνωση • β - Μεσογειακή Αναιμία 	<p>1 (8,33)</p> <p>1 (8,33)</p> <p>1 (8,33)</p> <p>1 (8,33)</p>
Φύλο	
Άρρεν	6 (50)
Θήλυ	6 (50)
Σχέση θρόμβωσης και θεραπείας με eculizumab	
καμία ειδική θεραπεία για ΠΝΑ	2 (16,66)
υπό eculizumab	2 (16,66)
κατά τη διάγνωση - έναρξη μετά το επεισόδιο	4 (33,34)
έναρξη eculizumab μεταγενέστερα	4 (33,34)
Αντιθρομβωτική αγωγή	
XMBH	1 (8,33)
XMBH και ακολούθως ασενοκουμαρόλη	4 (33,34)
Rivaroxaban	1 (8,33)
Salospir	1 (8,33)
Μη διαθέσιμη	5 (41,67)
Μέγεθος κλώνου ΠΝΑ	
κοκκιοκυττάρων > 50%	8 (66,67)
κοκκιοκυττάρων < 50%	2 (16,66)
Μη διαθέσιμο	2 (16,66)
Επιβίωση	
Εν ζωή	9 (75)
Θάνατος	1 (8,33)
Μη διαθέσιμο	2 (16,66)

Τα χαρακτηριστικά της νόσου και τα εργαστηριακά ευρήματα των 12 περιπτώσεων ασθενών με θρομβωτικό επεισόδιο αναφέρονται αναλυτικά στους Πίνακες 10.1, 10.2 και 10.3.

Πίνακας 10.1 Χαρακτηριστικά ασθενών με ΠΝΑ και επεισόδιο θρόμβωσης

Παράμετρος	Ασθενής 1	Ασθενής 2	Ασθενής 3	Ασθενής 4
Ηλικία, έτη	19	62	30	28
Φύλο	Θήλυ	Άρρεν	Άρρεν	Άρρεν
Σημείο Θρόμβωσης	Κεφαλική φλέβα άμφω	Μικρά αγγεία οφθαλμού	Σ. Budd-Chiari	Κεντρική αρτηρία ΔΕ οφθαλμού
Χρονική στιγμή Θρόμβωσης	Κατά τη διάγνωση	2 έτη από τη διάγνωση	Κατά τη διάγνωση	3 έτη από τη διάγνωση
Τύπος ΠΝΑ	Κλασική	Υποκείμενο νόσημα (PMF)	Κλασική	Κλασική
Hb (g/dl)	9,7	9	9,8	10
WBC ($\times 10^9/L$)	10,9	5,37	7,3	4,3
Plt ($\times 10^9/L$)	31	469	146	182
LDH (U/L)	445	822	1587	1445
Ολική χολερυθρίνη (mg/dl)	0,22	0,45	1,6	1,01
Ανοσοφαινότυπος				
Μέγεθος κλώνου μονοκυττάρων (%)	60	81	ΜΔ	4,57
Μέγεθος κλώνου κοκκιοκυττάρων (%)	60	56	67,8	68,85
Μέγεθος κλώνου ερυθρών type II+III (%)	31	46,75	21,8	19,25
Θεραπεία				
Eculizumab	Μετά το θρομβωτικό επεισόδιο	NAI	2 έτη μετά το θρομβωτικό επεισόδιο	6 έτη μετά το θρομβωτικό επεισόδιο
Αντιπηκτική αγωγή	ΧΜΒΗ	Salospir	ΧΜΒΗ, ασενοκουμαρολη	ΜΔ

Πίνακας 10. 2 Χαρακτηριστικά ασθενών με ΠΝΑ και επεισόδιο θρόμβωσης

Παράμετρος	Ασθενής 5	Ασθενής 6	Ασθενής 7	Ασθενής 8
Ηλικία, έτη	20	63	35	35
Φύλο	Θήλυ	Θήλυ	Άρρεν	Άρρεν
Σημείο Θρόμβωσης	Σπληνική φλέβα	Σ. Budd-Chiari	ΑΕΕ	Πυλαία φλέβα
Χρονική στιγμή Θρόμβωσης	12 έτη μετά τη διάγνωση	Κατά τη διάγνωση	Κατά τη διάγνωση	Κατά τη διάγνωση
Τύπος ΠΝΑ	Κλασική	Κλασική	Κλασική	Κλασική
Hb (g/dl)	5	6,3	7,2	9,9
WBC ($\times 10^9/L$)	3,7	3,45	4,07	2,85
Plt ($\times 10^9/L$)	43	42	201	80
LDH (U/L)	1358	890	2507	1677
Ολική χολερυθρίνη (mg/dl)	0,86	0,34	1,20	1,84
Ανοσοφαινότυπος				
Μέγεθος κλώνου μονοκυττάρων (%)	ΜΔ	91,2	ΜΔ	88
Μέγεθος κλώνου κοκκιοκυττάρων (%)	30	88,2	ΜΔ	90
Μέγεθος κλώνου ερυθρών type II+III (%)	97	30,2	35	54,2
Θεραπεία				
Eculizumab	OXI (Άρνηση)	6 μήνες μετά τη διάγνωση	14 έτη μετά τη διάγνωση	Μετά το θρομβωτικό επεισόδιο - διάγνωση
Αντιπηκτική αγωγή	ΧΜΒΗ, ασενοκουμαρόλη	ΜΔ	ΧΜΒΗ, ασενοκουμαρόλη	ΜΔ

Πίνακας 10. 3 Χαρακτηριστικά ασθενών με ΠΝΑ και επεισόδιο θρόμβωσης

Παράμετρος	Ασθενής 9	Ασθενής 10	Ασθενής 11	Ασθενής 12
Ηλικία, έτη	82	62	53	51
Φύλο	Θήλυ	Θήλυ	Άρρεν	Θήλυ
Σημείο Θρόμβωσης	Πνευμονική εμβολή	Πυλαία φλέβα	Άνω οβελιαίου κόλπου, πυλαίας και ΔΕ ηπατικής φλέβας, μεσεντερίων αγγείων	Πολλαπλές περεγχυματικές (ήπαρ, σπλήνας, ΑΡ νεφρός), Σ. Budd-Chiari
Χρονική στιγμή Θρόμβωσης	14 έτη προ διάγνωσης	6 έτη μετά τη διάγνωση	1 έτος προ διάγνωσης (2 επεισόδια), κατά τη διάγνωση	Κατά τη διάγνωση
Τύπος ΠΝΑ	Υποκείμενο νόσημα (AA)	Κλασική	Υποκείμενο νόσημα (β-ΜΑ)	Υποκείμενο νόσημα (PV)
Hb (g/dl)	9,4	8	ΜΔ	14,4
WBC ($\times 10^9/L$)	2,5	3,94	ΜΔ	4,8
Plt ($\times 10^9/L$)	18	146	ΜΔ	227
LDH (U/L)	242	4024	ΜΔ	399
Ολική χολερυθρίνη (mg/dl)	0,48	1,46	ΜΔ	0,52
Ανοσοφαινότυπος				
Μέγεθος κλώνου μονοκυττάρων (%)	4,97	ΜΔ	ΜΔ	45,5
Μέγεθος κλώνου κοκκιοκυττάρων (%)	2,55	ΜΔ	96,6	91,8
Μέγεθος κλώνου ερυθρών type II+III (%)	0,6	ΜΔ	96,6	90,6
Θεραπεία				
Eculizumab	ΟΧΙ	ΝΑΙ	Με το 3 ^ο επεισόδιο - διάγνωση	Μετά το επεισόδιο - διάγνωση
Αντιπηκτική αγωγή	ΜΔ	ΜΔ	Rivaroxaban	ΧΜΒΗ, ασενοκουμα ρόλη

Κεφάλαιο 4 - Συζήτηση

Από την έναρξη της μελέτης τον Μάιο του 2020 μέχρι τον Απρίλιο του 2021 καταγράφηκαν 34 ασθενείς με ΠΝΑ. Οι ασθενείς αυτοί διαγνώστηκαν σε 9 Αιματολογικά κέντρα της Ελλάδας από το 1988 μέχρι σήμερα. Δώδεκα από τους ασθενείς αυτούς εμφάνισαν θρόμβωση σε κάποια χρονική στιγμή στην πορεία της νόσου, αριθμός που αντιστοιχεί σε συχνότητα 35,29% και συμφωνεί με την αναφερόμενη στη βιβλιογραφία (29% - 44%).² Δεν διαπιστώθηκε διαφορά στη συχνότητα εμφάνισης θρομβωτικών επεισοδίων μεταξύ ανδρών και γυναικών. Δεν διαπιστώθηκαν διαφορές και ως προς την ηλικία των ασθενών που εμφάνισαν θρόμβωση αφού έξι ασθενείς ήταν άνω των 50 ετών και έξι κάτω των 35 ετών. Σε 20,58% των ασθενών το θρομβωτικό επεισόδιο αποτέλεσε και το κύριο αίτιο διερεύνησης προς την κατεύθυνση της ΠΝΑ. Είναι γνωστό ότι η θρόμβωση στην ΠΝΑ δεν «σέβεται» κανένα αγγείο και μπορεί να εμφανιστεί σε οποιαδήποτε θέση.² Οι πιο συχνές εντοπίσεις θρόμβωσης είναι οι ενδοκοιλιακές και εγκεφαλικές φλέβες για λόγους που δεν είναι ακόμα γνωστοί.² Σε συμφωνία με ό,τι αναφέρεται στη βιβλιογραφία έως σήμερα, στους ασθενείς της μελέτης μας, 7 (20,58%) ασθενείς εμφάνισαν θρόμβωση σε κάποιο ενδοκοιλιακό αγγείο (πυλαία φλέβα, μεσεντέρια αγγεία, σπληνική φλέβα, σ. Budd-Chiari, ενδοπαρεγχυματικές θρομβώσεις συμπαγών οργάνων). Επιπλέον αναφέρεται ότι στο ένα πέμπτο των περιπτώσεων η θρόμβωση αφορά πολλαπλά σημεία.² Στους ασθενείς της μελέτης μας το ποσοστό αυτό είναι 5,88% και αφορά 2 ασθενείς. Η θρόμβωση των ηπατικών φλεβών ή σύνδρομο Budd-Chiari αναγνωρίζεται ως μία από τις πιο συχνές εντοπίσεις θρόμβωσης και αφορά το 7,5 έως 25% των ασθενών με ΠΝΑ.² Τέσσερις από τους ασθενείς της μελέτης μας εμφάνισαν το σ. Budd-Chiari και αντιστοιχούν σε ποσοστό 11,76% του συνόλου των ασθενών που μελετήθηκαν, ενώ παράλληλα αντιστοιχούν σε 33,33% των ασθενών που εμφάνισαν κάποιο επεισόδιο θρόμβωσης. Το κοιλιακό άλγος αποτελούσε το κύριο σύμπτωμα στο σύνολο των ασθενών με σ. Budd-Chiari. Η προσβολή των αγγείων του οφθαλμού αποτελεί μια επίσης ασυνήθη εντόπιση θρόμβωσης που έχει περιγραφεί σε ασθενείς με ΠΝΑ.² Δύο από τους ασθενείς της μελέτης μας εμφάνισαν θρόμβωση σε αγγεία του οφθαλμού και αντιστοιχούν σε 16,66% του συνόλου των ασθενών με επεισόδιο θρόμβωσης. Αποτέλεσμα των θρομβώσεων αυτών ήταν και στους δυο ασθενείς η σημαντικού βαθμού απώλεια της όρασης με σοβαρές συνέπειες στην ποιότητα ζωής τους. Η παρουσία κλώνου ΠΝΑ έχει παρατηρηθεί σε αρκετές αιματολογικές διαταραχές.¹²³ Σε ασθενείς με απλαστική αναιμία, η ανεπάρκεια των

CD55 και CD59 έχουν ανιχνευθεί σε 33,3% των ασθενών, ενώ σε ασθενείς με ΜΔΣ το αντίστοιχο ποσοστό ήταν 16,5%.^{3,123,124} Η συνύπαρξη ΠΝΑ και μυελούπερπλαστικών νοσημάτων είναι σπάνια και συχνά δύσκολο να εντοπιστεί. Στην διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν αρκετές αναφορές συνύπαρξης ΠΝΑ και κατά κύριο λόγο πρωτοπαθούς μυελοϊνώσης¹²³⁻¹²⁷ ενώ έχει περιγραφεί και μια περίπτωση ΠΝΑ σε ασθενή με JAK2V617F θετική αληθή πολυκυτταραιμία.¹²³ Από τους ασθενείς που είχαν κάποιο θρομβωτικό επεισόδιο κατά την πορεία της νόσου τους, στον πληθυσμό που μελετήθηκε σημειώνεται ότι ένας (8,33%) ασθενής είχε ΑΑ, ένας (8,33%) πρωτοπαθή μυελοϊνώση, ένας (8,33%) αληθή πολυκυτταραιμία και ένας (8,33%) β-μεσογειακή αναιμία.

Είναι γενικά αποδεκτό ότι το μέγεθος του κλώνου ΠΝΑ αποτελεί έναν από τους πιο σημαντικούς παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση θρόμβωσης.^{17,92,128} Στην παρούσα μελέτη η διάμεση τιμή του κλώνου των κοκκιοκυττάρων και των μονοκυττάρων στους ασθενείς με επεισόδιο θρόμβωσης ήταν 58% (εύρος 2,55 - 91,8%) και 81% (εύρος 4,57 - 91,2%) αντίστοιχα. Επίσης, έχει αναφερθεί ένας δεκαετής κίνδυνος φλεβικής θρόμβωσης της τάξης του 44% σε ασθενείς με ΠΝΑ και κλώνο κοκκιοκυττάρων > 50%.^{89,129} Σε ασθενείς με μικρότερο κλώνο, αυτό ήταν μόνο 5,8%, το οποίο, ωστόσο, είναι υψηλότερο από ό,τι στους υγιείς.^{89,129} Στον πληθυσμό της μελέτης, από τους 12 ασθενείς με κάποιο θρομβωτικό συμβάν, 8 (66,67%) ασθενείς είχαν μέγεθος κλώνου κοκκιοκυττάρων μεγαλύτερο του 50%.

Η άμεση αντιμετώπιση ενός οξέος θρομβωτικού συμβάντος σε ασθενείς με ΠΝΑ εξακολουθεί να είναι η αντιπηκτική αγωγή με κλασική ηπαρίνη ή ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους.¹³ Τα από του στόματος άμεσα αντιπηκτικά δεν έχουν επί του παρόντος μελετηθεί επαρκώς ώστε να μπορούμε να βγάλουμε ασφαλή συμπεράσματα για την δραστηκότητά τους σε αυτή την ομάδα ασθενών.¹³ Ταυτόχρονα με την κλασική αντιπηκτική αγωγή, θα πρέπει να χορηγηθεί το συντομότερο δυνατό και ειδική θεραπεία για την ΠΝΑ με eculizumab ή ravulizumab, ώστε να αποφευχθούν νέα επεισόδια θρόμβωσης καθώς όπως έχει φανεί από μελέτες η αντιπηκτική αγωγή από μόνη της δεν είναι αρκετή για τον μακροπρόθεσμο έλεγχο.^{13,45} Μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα όσον αφορά την ασφαλή διάρκεια της αντιπηκτικής αγωγής μετά το θρομβωτικό επεισόδιο, σε ασθενείς που είναι υπό θεραπεία με αναστολείς του συμπληρώματος, ώστε η απόφαση για τη διακοπή τους να είναι εξατομικευμένη και μετά από συζήτηση με τον ασθενή.¹³ Στους ασθενείς που μελετήθηκαν, η αντιπηκτική θεραπεία που χορηγήθηκε μετά το επεισόδιο θρόμβωσης ήταν ΧΜΒΗ στην πλειονότητα των ασθενών ενώ 4 από αυτούς

έλαβαν ασενοκουμαρόλη μετά από μια σύντομη περίοδο αγωγής με ΧΜΒΗ. Δεν υπάρχουν στοιχεία όσον αφορά τη διάρκεια ή τη διακοπή της θεραπείας στους ασθενείς αυτούς. Δύο (16,66%) ασθενείς ήταν υπό θεραπεία με eculizumab τη χρονική στιγμή της θρόμβωσης ενώ 4 (33,34%) ασθενείς τέθηκαν σε θεραπεία με αυτό μετά το επεισόδιο της θρόμβωσης σύμφωνα με τις διεθνείς συστάσεις.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η ΠΝΑ αποτελεί μία από τις πιο θρομβοφιλικές καταστάσεις και η θρόμβωση αποτελεί την πιο συχνή αιτία θανάτου των ασθενών με ΠΝΑ.^{1,17,20,45,92,128} Η θρομβοεμβολική νόσος στην ΠΝΑ ευθύνεται για 40% έως 67% των θανάτων για τους οποίους είναι γνωστή η αιτία.² Επίσης, υπάρχει αναφορά, ότι η συχνότητα εμφάνισης θρόμβωσης στην ΠΝΑ είναι πιθανό να έχει υποτιμηθεί όπως προκύπτει από την παρουσία υποκλινικής πνευμονικής εμβολής ή ισχαιμίας του μυοκαρδίου που παρατηρήθηκε σε 6 από τους 10 ασθενείς σε μία μελέτη² και παρουσία υποκλινικής βλάβης του μυοκαρδίου σε 2 από τους 10 ασθενείς σε μία άλλη μελέτη.⁶³ Σε κανέναν από τους 12 ασθενείς της παρούσας μελέτης, το θρομβωτικό επεισόδιο δεν είχε θανατηφόρο έκβαση. Ένας μόνο ασθενής κατέληξε 1,5 έτος μετά το επεισόδιο της θρόμβωσης από άλλο αίτιο (σήψη). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι οι περιπτώσεις που καταγράφηκαν αφορούν ασθενείς με επιβεβαιωμένη διάγνωση ΠΝΑ και είναι γνωστό ότι κάποια θρομβωτικά επεισόδια έχουν θανατηφόρα αποτελέσματα πριν καθοριστεί η ακριβής διάγνωση.

Στους περιορισμούς της παρούσας μελέτης επισημαίνεται ο αναδρομικός χαρακτήρας της καταγραφής των δεδομένων και ο σχετικά μικρός αριθμός ασθενών. Ωστόσο, η νόσος είναι σπάνια και οι περιπτώσεις που καταγράφηκαν και μελετήθηκαν, αποτελούν ένα σημαντικό ποσοστό των ασθενών με ΠΝΑ που διαγνώστηκαν και αντιμετωπίστηκαν στην Ελλάδα καθώς συμμετείχαν στην καταγραφή 9 αιματολογικά κέντρα από διαφορετικά διαμερίσματα.

Κεφάλαιο 5 - Συμπεράσματα

Η θρόμβωση έχει αναδειχθεί ως η κύρια αιτία θανάτου των ασθενών με ΠΝΑ, γεγονός που την καθιστά αντικείμενο ιδιαίτερου ενδιαφέροντος τόσο ερευνητικά όσο και κλινικά. Στην παρούσα αναδρομική μελέτη αναλύθηκαν τα δεδομένα ασθενών με ΠΝΑ αναφορικά με τις θρομβωτικές επιπλοκές που εμφάνισαν κατά την πορεία της νόσου. Οι ασθενείς της μελέτης προέρχονται από εννέα αιματολογικά κέντρα από όλα τα διαμερίσματα της χώρας. Τα ευρήματα της μελέτης, παρά τον μικρό αριθμό ασθενών, ανέδειξαν τη θρόμβωση ως μια σημαντική επιπλοκή της ΠΝΑ που αφορά το ένα τρίτο τουλάχιστον των ασθενών. Επιπλέον, η μελέτη καταδεικνύει ότι η συχνότητα εμφάνισης των θρομβώσεων, οι εντοπίσεις και η συσχέτιση με το μέγεθος του παθολογικού ΠΝΑ κλώνου, συμβαδίζουν με τα βιβλιογραφικά δεδομένα. Η παρουσία ενός θρομβωτικού επεισοδίου σε ασυνήθη θέση αποτέλεσε και τον κύριο λόγο διερεύνησης αυτών των ασθενών προς την κατεύθυνση της ΠΝΑ. Ο ρόλος της θεραπείας των ασθενών με eculizumab τόσο στο πλαίσιο της αντιμετώπισης θρομβωτικών επεισοδίων, όσο και στο πλαίσιο της πρόληψης αυτών δεν αναλύθηκε στην παρούσα μελέτη λόγω του πολύ μικρού αριθμού ασθενών που ελάμβαναν eculizumab. Ωστόσο, αυτό αποτελεί έναν μελλοντικό στόχο μελέτης με βάση τα δεδομένα ενός προοπτικού μητρώου καταγραφής των ασθενών με ΠΝΑ.

Σύνοψη Διατριβής

Η παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία είναι μια σπάνια, επίκτητη κλωνική διαταραχή των στελεχιαίων αιμοποιητικών κυττάρων, δυνητικά απειλητική για τη ζωή, που εκδηλώνεται με χρόνια αιμολυτική αναιμία, ανεπάρκεια του μυελού των οστών και θρόμβωση. Ασθενείς με Coombs αρνητική αιμολυτική αναιμία, απλαστική αναιμία, ανθεκτική αναιμία, καθώς και ασθενείς με ανεξήγητο επεισόδιο θρόμβωσης σε συνδυασμό με πανκυτταροπενία ή αιμόλυση, θα πρέπει να ελέγχονται για ΠΝΑ. Η κλινική υποψία της ΠΝΑ θα πρέπει να επιβεβαιωθεί με κυτταρομετρία ροής περιφερικού αίματος έτσι ώστε να προσδιοριστεί η απουσία ή η σοβαρή ανεπάρκεια των GPI συνδεδεμένων πρωτεϊνών σε τουλάχιστον δύο ή περισσότερες κυτταρικές σειρές. Οι κλινικές εκδηλώσεις στους ασθενείς με ΠΝΑ αφορούν πολλά συστήματα, είναι συχνά μη ειδικές και είναι το αποτέλεσμα ενδοαγγειακής αιμόλυσης, θρόμβωσης και ανεπάρκειας μυελού των οστών. Η αναστολή του τερματικού συμπληρώματος και η αλλογενής μεταμόσχευση μυελού των οστών αποτελούν τις μόνες αποτελεσματικές και εγκεκριμένες θεραπείες για ασθενείς με ΠΝΑ. Οι ασθενείς στους οποίους είναι απαραίτητη η έναρξη θεραπείας, αντιμετωπίζονται ανάλογα με την κλινική μορφή της νόσου. Τα θρομβοεμβολικά επεισόδια αποτελούν την πιο συχνή αιτία θανάτου στους ασθενείς με ΠΝΑ. Έχει αναφερθεί ότι 29% - 44% των ασθενών με ΠΝΑ παρουσιάζουν τουλάχιστον ένα θρομβοεμβολικό συμβάν κατά τη διάρκεια της νόσου και μπορεί να εμφανιστεί σε οποιοδήποτε σημείο. Οι πιο κοινές θέσεις περιλαμβάνουν τις ενδοκοιλιακές και εγκεφαλικές φλέβες, για λόγους ακόμα άγνωστους. Ο μηχανισμός της θρόμβωσης στην ΠΝΑ δεν είναι σαφής γι'αυτό και επικεντρώνει ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον. Ένα θρομβωτικό επεισόδιο σε έναν ασθενή με ΠΝΑ χρήζει επείγουσας παρέμβασης λόγω υψηλού κινδύνου θνητότητας ή σημαντικής αναπηρίας. Η πλήρης αντιπηκτική αγωγή με κλασική ηπαρίνη ή ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους εξακολουθεί να αποτελεί τη βέλτιστη άμεση αντιμετώπιση σε περίπτωση οξείας θρόμβωσης. Επίσης, η θεραπεία με αναστολέα του συμπληρώματος θα πρέπει να τεθεί το συντομότερο δυνατό για να αποφευχθούν άλλα επεισόδια θρόμβωσης καθώς η αντιπηκτική αγωγή από μόνη της δεν επαρκεί για τον μακροπρόθεσμο έλεγχο της θρόμβωσης. Για τη μακροπρόθεσμη αντιπηκτική αγωγή συνιστώνται οι ανταγωνιστές της βιταμίνης Κ, εάν δεν υπάρχουν αντενδείξεις. Τα από του στόματος άμεσα δρώντα αντιπηκτικά είναι πιθανώς ισοδύναμα αλλά δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς στην ΠΝΑ. Η πρόληψη της θρόμβωσης στην ΠΝΑ αποτελεί ένα σημαντικό στόχο στη διαχείριση

των ασθενών και αναμένεται να οδηγήσει σε μείωση τόσο της νοσηρότητας όσο και της θνητότητας. Στην παρούσα μελέτη διενεργήθηκε αναδρομική καταγραφή δεδομένων από 34 ασθενείς με ΠΝΑ. Ο πληθυσμός της μελέτης προέρχεται από 9 αιματολογικά κέντρα της Ελλάδας. Στόχος της παρούσας αναδρομικής μελέτης είναι η εκτίμηση της συχνότητας των επεισοδίων θρόμβωσης, της εντόπισης και της χρονικής στιγμής εμφάνισης. Όλοι οι ασθενείς, ανεξαρτήτου ηλικίας, με κλινική διάγνωση ΠΝΑ συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη. Από τους 34 ασθενείς, 15 ήταν γυναίκες (44%) και 19 άνδρες (56%). Η διάμεση ηλικία κατά τη διάγνωση ήταν 32,5 έτη. Από τους 34 ασθενείς, οι 19 (56%) διαγνώστηκαν με κλασική μορφή ΠΝΑ και 14 ασθενείς (42%) εμφάνισαν ΠΝΑ σε έδαφος άλλης πρωτοπαθούς διαταραχής του μυελού των οστών. Από αυτούς τους ασθενείς 26.6% είχε ιστορικό απλαστικής ή υποπλαστικής αναιμίας κατά την διάγνωση. Τα κύρια σημεία και συμπτώματα των ασθενών κατά τη διάγνωση ήταν αδυναμία/καταβολή, κοιλιακό άλγος, αιμοσφαιρινουρία, ραχιαλγία/κεφαλαλγία, δυσφαγία και στυτική δυσλειτουργία. Σπληνομεγαλία παρατηρήθηκε σε 23,5% (8/34) των ασθενών ενώ η ηπατική και νεφρική δυσλειτουργία διαπιστώθηκε σε 17,6% (6/34) και 8,82% (3/34) των ασθενών αντίστοιχα. Τριανταένα από 34 (91,17%) ασθενείς εμφάνιζαν αναιμία κατά τη διάγνωση, ενώ θρομβοπενία παρατηρήθηκε σε 20 (58,8%) ασθενείς. Συνολικά, 12 (35,29%) από τους 34 ασθενείς εμφάνισαν κάποιο επεισόδιο θρόμβωσης, επτά (20,58%) από αυτούς κατά τη διάγνωση και 2 (5,88%) ασθενείς ενώ υποβάλλονταν σε ειδική θεραπεία για την ΠΝΑ. Από τους ασθενείς με θρομβωτικό επεισόδιο, 4 εμφάνισαν σύνδρομο Budd-Chiari, 3 διαγνώστηκαν με θρόμβωση πυλαίας φλέβας, 2 εμφάνισαν θρόμβωση σε αγγεία των οφθαλμών. Επισημαίνεται ότι 2 ασθενείς παρουσίασαν πολλαπλά επεισόδια θρόμβωσης κατά τη διάρκεια της νόσου. Η δευτερογενής αντιπηκτική θεραπεία που χορηγήθηκε στους ασθενείς μετά το θρομβωτικό επεισόδιο ήταν ΧΜΒΗ στην πλειονότητα των ασθενών, ενώ 4 ασθενείς έλαβαν ασενοκουμαρόλη μετά από μια σύντομη περίοδο αγωγής με ΧΜΒΗ. Παρουσιάστηκαν αναλυτικά τα κύρια δημογραφικά χαρακτηριστικά και εργαστηριακά ευρήματα και των 12 ασθενών που παρουσίασαν κάποιο θρομβοεμβολικό επεισόδιο. Η ΠΝΑ χαρακτηρίζεται ως μια από τις πιο σοβαρές επίκτητες θρομβοφιλικές νόσους, γεγονός που καθιστά τη μελέτη των παθογενετικών μηχανισμών της θρόμβωσης στο πλαίσιο της ΠΝΑ ιδιαίτερης σημασίας. Καθώς η προοπτική μελέτη της ΠΝΑ είναι δύσκολη, κυρίως λόγω της σπανιότητάς της, η μελέτη δεδομένων από αναδρομικές καταγραφές ασθενών με ΠΝΑ παραμένει σημαντική πηγή πληροφοριών.

Βιβλιογραφία

1. Hill A, DeZern AE, Kinoshita T, Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Nat Rev Dis Primer*. 2017;3:17028. doi:10.1038/nrdp.2017.28
2. Hill A, Kelly RJ, Hillmen P. Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2013;121(25):4985-4996; quiz 5105. doi:10.1182/blood-2012-09-311381
3. Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2014;124(18):2804-2811. doi:10.1182/blood-2014-02-522128
4. Gull WW. A case of intermittent haematuria, with remarks. *Guys Hosp Rep*. 1866;12:381-392.
5. Strübing P. Paroxysmale haemoglobinurie. *Dtsch Med Wochenschr* 1946. 1882;8:1-16.
6. Enneking J. Eine neue form intermittierender haemoglobinurie (Haemoglobinuria paroxysmalis nocturia). *Klin Wochenschr*. 1928;7:2045.
7. Ham TH. Chronic Hemolytic Anemia with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *N Engl J Med*. 1937;217(23):915-917. doi:10.1056/NEJM193712022172307
8. 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(4):703-711. doi:10.1016/0092-8674(93)90250-t
9. 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(4):249-255. doi:10.1056/NEJM199401273300404
10. 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(5099):1318-1320. doi:10.1126/science.7680492
11. Bessler M, Mason PJ, Hillmen P, et al. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria (PNH) is caused by somatic mutations in the PIG-A gene. *EMBO J*. 1994;13(1):110-117.
12. 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;25(11):1256-1264. doi:10.1038/nbt1344
13. Brodsky RA. How I treat paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2021;137(10):1304-1309. doi:10.1182/blood.2019003812
14. Kanakura Y, Kinoshita T, Nishimura J, eds. *Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: From Bench to Bedside*. Springer Japan; 2017. doi:10.1007/978-4-431-56003-6
15. Sahin F, Ozkan MC, Mete NG, et al. Multidisciplinary clinical management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Am J Blood Res*. 2015;5(1):1-9.
16. Schrezenmeier H, Röth A, Araten DJ, et al. Baseline clinical characteristics and disease burden in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH): updated analysis from the International PNH Registry. *Ann Hematol*. 2020;99(7):1505-1514. doi:10.1007/s00277-020-04052-z

17. Schrezenmeier H, Muus P, Socié G, et al. Baseline characteristics and disease burden in patients in the International Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Registry. *Haematologica*. 2014;99(5):922-929. doi:10.3324/haematol.2013.093161
18. Hillmen P, Lewis SM, Bessler M, Luzzatto L, Dacie JV. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med*. 1995;333(19):1253-1258. doi:10.1056/NEJM199511093331904
19. Socié G, Mary JY, de Gramont A, et al. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: long-term follow-up and prognostic factors. French Society of Haematology. *Lancet Lond Engl*. 1996;348(9027):573-577. doi:10.1016/s0140-6736(95)12360-1
20. de Latour RP, Mary JY, Salanoubat C, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: natural history of disease subcategories. *Blood*. 2008;112(8):3099-3106. doi:10.1182/blood-2008-01-133918
21. Socié G, Schrezenmeier H, Muus P, et al. Changing prognosis in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria disease subcategories: an analysis of the International PNH Registry. *Intern Med J*. 2016;46(9):1044-1053. doi:10.1111/imj.13160
22. Kelly RJ, Hill A, Arnold LM, et al. Long-term treatment with eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: sustained efficacy and improved survival. *Blood*. 2011;117(25):6786-6792. doi:10.1182/blood-2011-02-333997
23. Füreder W, Sperr WR, Heibl S, et al. Prognostic factors and follow-up parameters in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH): experience of the Austrian PNH network. *Ann Hematol*. 2020;99(10):2303-2313. doi:10.1007/s00277-020-04214-z
24. Fujita M, Kinoshita T. GPI-anchor remodeling: potential functions of GPI-anchors in intracellular trafficking and membrane dynamics. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1821(8):1050-1058. doi:10.1016/j.bbali.2012.01.004
25. Nagarajan S, Brodsky RA, Young NS, Medof ME. Genetic defects underlying paroxysmal nocturnal hemoglobinuria that arises out of aplastic anemia. *Blood*. 1995;86(12):4656-4661.
26. Nafa K, Mason PJ, Hillmen P, Luzzatto L, Bessler M. Mutations in the PIG-A gene causing paroxysmal nocturnal hemoglobinuria are mainly of the frameshift type. *Blood*. 1995;86(12):4650-4655.
27. Oni SB, Osunkoya BO, Luzzatto L. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: evidence for monoclonal origin of abnormal red cells. *Blood*. 1970;36(2):145-152.
28. Hu R, Mukhina GL, Piantadosi S, Barber JP, Jones RJ, Brodsky RA. PIG-A mutations in normal hematopoiesis. *Blood*. 2005;105(10):3848-3854. doi:10.1182/blood-2004-04-1472
29. Dameshek W. Riddle: what do aplastic anemia, paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and "hypoplastic" leukemia have in common? *Blood*. 1967;30(2):251-254.
30. Luzzatto L, Bessler M, Rotoli B. Somatic mutations in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a blessing in disguise? *Cell*. 1997;88(1):1-4. doi:10.1016/s0092-8674(00)81850-4

31. Young NS. The problem of clonality in aplastic anemia: Dr Dameshek's riddle, restated. *Blood*. 1992;79(6):1385-1392.
32. Yamashina M, Ueda E, Kinoshita T, et al. Inherited complete deficiency of 20-kilodalton homologous restriction factor (CD59) as a cause of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med*. 1990;323(17):1184-1189. doi:10.1056/NEJM199010253231707
33. Nevo Y, Ben-Zeev B, Tabib A, et al. CD59 deficiency is associated with chronic hemolysis and childhood relapsing immune-mediated polyneuropathy. *Blood*. 2013;121(1):129-135. doi:10.1182/blood-2012-07-441857
34. Araten DJ, Nafa K, Pakdeesuwan K, Luzzatto L. Clonal populations of hematopoietic cells with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria genotype and phenotype are present in normal individuals. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(9):5209-5214. doi:10.1073/pnas.96.9.5209
35. Kaiafa G, Papadopoulos A, Ntaios G, et al. Detection of CD55- and CD59-deficient granulocytic populations in patients with myelodysplastic syndrome. *Ann Hematol*. 2008;87(4):257-262. doi:10.1007/s00277-007-0420-5
36. Dunn DE, Tanawattanacharoen P, Boccuni P, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria cells in patients with bone marrow failure syndromes. *Ann Intern Med*. 1999;131(6):401-408. doi:10.7326/0003-4819-131-6-199909210-00002
37. Raza A, Ravandi F, Rastogi A, et al. A prospective multicenter study of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria cells in patients with bone marrow failure. *Cytometry B Clin Cytom*. 2014;86(3):175-182. doi:10.1002/cyto.b.21139
38. Pu JJ, Hu R, Mukhina GL, Carraway HE, McDevitt MA, Brodsky RA. The small population of PIG-A mutant cells in myelodysplastic syndromes do not arise from multipotent hematopoietic stem cells. *Haematologica*. 2012;97(8):1225-1233. doi:10.3324/haematol.2011.048215
39. Höchsmann B, Murakami Y, Osato M, et al. Complement and inflammasome overactivation mediates paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with autoinflammation. *J Clin Invest*. 2019;129(12):5123-5136. doi:10.1172/JCI123501
40. Parker CJ. Update on the diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program*. 2016;2016(1):208-216. doi:10.1182/asheducation-2016.1.208
41. Rollins SA, Sims PJ. The complement-inhibitory activity of CD59 resides in its capacity to block incorporation of C9 into membrane C5b-9. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1990;144(9):3478-3483.
42. Lublin DM, Atkinson JP. Decay-accelerating factor: biochemistry, molecular biology, and function. *Annu Rev Immunol*. 1989;7:35-58. doi:10.1146/annurev.iy.07.040189.000343
43. Medof ME, Kinoshita T, Nussenzweig V. Inhibition of complement activation on the surface of cells after incorporation of decay-accelerating factor (DAF) into their membranes. *J Exp Med*. 1984;160(5):1558-1578. doi:10.1084/jem.160.5.1558
44. Risitano AM, Notaro R, Marando L, et al. Complement fraction 3 binding on erythrocytes as additional mechanism of disease in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria patients

- treated by eculizumab. *Blood*. 2009;113(17):4094-4100. doi:10.1182/blood-2008-11-189944
45. Hillmen P, Muus P, Dührsen U, et al. Effect of the complement inhibitor eculizumab on thromboembolism in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2007;110(12):4123-4128. doi:10.1182/blood-2007-06-095646
 46. 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(7):2613-2620.
 47. Risitano AM, Maciejewski JP, Muranski P, et al. Large granular lymphocyte (LGL)-like clonal expansions in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) patients. *Leukemia*. 2005;19(2):217-222. doi:10.1038/sj.leu.2403617
 48. Brodsky RA. How I treat paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2009;113(26):6522-6527. doi:10.1182/blood-2009-03-195966
 49. Sachdeva MUS, Varma N, Chandra D, Bose P, Malhotra P, Varma S. Multiparameter FLAER-based flow cytometry for screening of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria enhances detection rates in patients with aplastic anemia. *Ann Hematol*. 2015;94(5):721-728. doi:10.1007/s00277-014-2267-x
 50. Hartmann RC, Jenkins DE. The "sugar-water" test for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med*. 1966;275(3):155-157. doi:10.1056/NEJM196607212750308
 51. Hall SE, Rosse WF. The use of monoclonal antibodies and flow cytometry in the diagnosis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 1996;87(12):5332-5340.
 52. Brodsky RA, Mukhina GL, Li S, et al. Improved detection and characterization of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria using fluorescent aerolysin. *Am J Clin Pathol*. 2000;114(3):459-466. doi:10.1093/ajcp/114.3.459
 53. Araten DJ, Swirsky D, Karadimitris A, et al. Cytogenetic and morphological abnormalities in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol*. 2001;115(2):360-368. doi:10.1046/j.1365-2141.2001.03113.x
 54. Matsui WH, Brodsky RA, Smith BD, Borowitz MJ, Jones RJ. Quantitative analysis of bone marrow CD34 cells in aplastic anemia and hypoplastic myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2006;20(3):458-462. doi:10.1038/sj.leu.2404119
 55. Parker C, Omine M, Richards S, et al. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2005;106(12):3699-3709. doi:10.1182/blood-2005-04-1717
 56. Dezern AE, Borowitz MJ. ICCS/ESCCA consensus guidelines to detect GPI-deficient cells in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and related disorders part 1 - clinical utility. *Cytometry B Clin Cytom*. 2018;94(1):16-22. doi:10.1002/cyto.b.21608
 57. Bessler M, Hiken J. The pathophysiology of disease in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program*. Published online 2008:104-110. doi:10.1182/asheducation-2008.1.104

58. Mukhina GL, Buckley JT, Barber JP, Jones RJ, Brodsky RA. Multilineage glycosylphosphatidylinositol anchor-deficient haematopoiesis in untreated aplastic anaemia. *Br J Haematol.* 2001;115(2):476-482. doi:10.1046/j.1365-2141.2001.03127.x
59. Moyo VM, Mukhina GL, Garrett ES, Brodsky RA. Natural history of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria using modern diagnostic assays. *Br J Haematol.* 2004;126(1):133-138. doi:10.1111/j.1365-2141.2004.04992.x
60. 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(13):1653-1662. doi:10.1001/jama.293.13.1653
61. Hillmen P, Elebute M, Kelly R, et al. Long-term effect of the complement inhibitor eculizumab on kidney function in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Am J Hematol.* 2010;85(8):553-559. doi:10.1002/ajh.21757
62. Hill A, Rother RP, Wang X, et al. Effect of eculizumab on haemolysis-associated nitric oxide depletion, dyspnoea, and measures of pulmonary hypertension in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol.* 2010;149(3):414-425. doi:10.1111/j.1365-2141.2010.08096.x
63. Hill A, Sapsford RJ, Scally A, et al. Under-recognized complications in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: raised pulmonary pressure and reduced right ventricular function. *Br J Haematol.* 2012;158(3):409-414. doi:10.1111/j.1365-2141.2012.09166.x
64. Bunn HF, Nathan DG, Dover GJ, et al. Pulmonary hypertension and nitric oxide depletion in sickle cell disease. *Blood.* 2010;116(5):687-692. doi:10.1182/blood-2010-02-268193
65. Körper S, Höchsmann B, Schrezenmeier H. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria revisited: news on pathophysiology, clinical course and treatment. *LaboratoriumsMedizin.* 2015;39(2):87-96. doi:10.1515/labmed-2015-0010
66. Devos T, Meers S, Boeckx N, et al. Diagnosis and management of PNH: Review and recommendations from a Belgian expert panel. *Eur J Haematol.* 2018;101(6):737-749. doi:10.1111/ejh.13166
67. Hillmen P, Lewis SM, Bessler M, Luzzatto L, Dacie JV. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med.* 1995;333(19):1253-1258. doi:10.1056/NEJM199511093331904
68. Peffault de Latour R, Schrezenmeier H, Bacigalupo A, et al. Allogeneic stem cell transplantation in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Haematologica.* 2012;97(11):1666-1673. doi:10.3324/haematol.2012.062828
69. Brodsky RA. Stem cell transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Haematologica.* 2010;95(6):855-856. doi:10.3324/haematol.2010.023176
70. Takahashi Y, McCoy JP, Carvallo C, et al. In vitro and in vivo evidence of PNH cell sensitivity to immune attack after nonmyeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood.* 2004;103(4):1383-1390. doi:10.1182/blood-2003-04-1281
71. Markiewicz M, Drozd-Sokolowska J, Biecek P, et al. Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: Multicenter Analysis by the

Polish Adult Leukemia Group. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. 2020;26(10):1833-1839. doi:10.1016/j.bbmt.2020.05.024

72. Hillmen P, Young NS, Schubert J, et al. The complement inhibitor eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med*. 2006;355(12):1233-1243. doi:10.1056/NEJMoa061648
73. 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(4):1840-1847. doi:10.1182/blood-2007-06-094136
74. Lee JW, Sicre de Fontbrune F, Wong Lee Lee L, et al. Ravulizumab (ALXN1210) vs eculizumab in adult patients with PNH naive to complement inhibitors: the 301 study. *Blood*. 2019;133(6):530-539. doi:10.1182/blood-2018-09-876136
75. Kulasekararaj AG, Hill A, Rottinghaus ST, et al. Ravulizumab (ALXN1210) vs eculizumab in C5-inhibitor-experienced adult patients with PNH: the 302 study. *Blood*. 2019;133(6):540-549. doi:10.1182/blood-2018-09-876805
76. Hillmen P, Muus P, Röth A, et al. Long-term safety and efficacy of sustained eculizumab treatment in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol*. 2013;162(1):62-73. doi:10.1111/bjh.12347
77. Brodsky RA, Peffault de Latour R, Rottinghaus ST, et al. Characterization of breakthrough hemolysis events observed in the phase 3 randomized studies of ravulizumab versus eculizumab in adults with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Haematologica*. 2021;106(1):230-237. doi:10.3324/haematol.2019.236877
78. Risitano AM, Marotta S, Ricci P, et al. Anti-complement Treatment for Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: Time for Proximal Complement Inhibition? A Position Paper From the SAAWP of the EBMT. *Front Immunol*. 2019;10:1157. doi:10.3389/fimmu.2019.01157
79. Yuan X, Gavriilaki E, Thanassi JA, et al. Small-molecule factor D inhibitors selectively block the alternative pathway of complement in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and atypical hemolytic uremic syndrome. *Haematologica*. 2017;102(3):466-475. doi:10.3324/haematol.2016.153312
80. Parker CJ. Management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in the era of complement inhibitory therapy. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program*. 2011;2011:21-29. doi:10.1182/asheducation-2011.1.21
81. Peffault de Latour R. Transplantation for bone marrow failure: current issues. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program*. 2016;2016(1):90-98. doi:10.1182/asheducation-2016.1.90
82. Raghupathy R, Derman O. Response of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone with aplastic anemia to rituximab. *Case Rep Hematol*. 2012;2012:106182. doi:10.1155/2012/106182
83. Luzzatto L, Gianfaldoni G, Notaro R. Management of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: a personal view. *Br J Haematol*. 2011;153(6):709-720. doi:10.1111/j.1365-2141.2011.08690.x

84. Araten DJ, Thaler HT, Luzzatto L. High incidence of thrombosis in African-American and Latin-American patients with Paroxysmal Nocturnal Haemoglobinuria. *Thromb Haemost.* 2005;93(1):88-91. doi:10.1160/TH04-06-0391
85. Nishimura J-I, Kanakura Y, Ware RE, et al. Clinical course and flow cytometric analysis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in the United States and Japan. *Medicine (Baltimore)*. 2004;83(3):193-207. doi:10.1097/01.md.0000126763.68170.46
86. Poulou LS, Xila V, Rokas GI, Karianakis G, Bartzoudis D, Ziakas PD. Temporal trends in mortality rates from visceral vein thrombosis in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: An optimistic view. *Thromb Haemost.* 2008;99(3):642-645. doi:10.1160/TH07-11-0664
87. Gralnick HR, Vail M, McKeown LP, et al. Activated platelets in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol.* 1995;91(3):697-702. doi:10.1111/j.1365-2141.1995.tb05371.x
88. Ray JG, Burows RF, Ginsberg JS, Burrows EA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and the risk of venous thrombosis: review and recommendations for management of the pregnant and nonpregnant patient. *Haemostasis.* 2000;30(3):103-117. doi:10.1159/000022532
89. Hall C, Richards S, Hillmen P. Primary prophylaxis with warfarin prevents thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). *Blood.* 2003;102(10):3587-3591. doi:10.1182/blood-2003-01-0009
90. Fowkes FJI, Price JF, Fowkes FGR. Incidence of diagnosed deep vein thrombosis in the general population: systematic review. *Eur J Vasc Endovasc Surg Off J Eur Soc Vasc Surg.* 2003;25(1):1-5. doi:10.1053/ejvs.2002.1778
91. Hoekstra J, Leebeek FWG, Plessier A, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in Budd-Chiari syndrome: findings from a cohort study. *J Hepatol.* 2009;51(4):696-706. doi:10.1016/j.jhep.2009.06.019
92. Griffin M, Munir T. Management of thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a clinician's guide. *Ther Adv Hematol.* 2017;8(3):119-126. doi:10.1177/2040620716681748
93. McMullin MF, Hillmen P, Jackson J, Ganly P, Luzzatto L. Tissue plasminogen activator for hepatic vein thrombosis in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *J Intern Med.* 1994;235(1):85-89. doi:10.1111/j.1365-2796.1994.tb01037.x
94. Ziakas PD, Poulou LS, Rokas GI, Bartzoudis D, Voulgarelis M. Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: sites, risks, outcome. An overview. *J Thromb Haemost JTH.* 2007;5(3):642-645. doi:10.1111/j.1538-7836.2007.02379.x
95. Poulou LS, Vakrinou G, Pomoni A, et al. Stroke in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: patterns of disease and outcome. *Thromb Haemost.* 2007;98(3):699-701.
96. Watt SG, Winhoven S, Hay CRM, Lucas GS. Purpura fulminans in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol.* 2007;137(4):271. doi:10.1111/j.1365-2141.2007.06522.x
97. Ziakas PD, Poulou LS, Pomoni A. Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria at a glance: a clinical review. *Curr Vasc Pharmacol.* 2008;6(4):347-353. doi:10.2174/157016108785909742

98. Abou Antoun S, El-Haddad B, Wehbe E, Schulz T. Lysis and thrombosis: manifestation of the same disease. *Am J Hematol*. 2008;83(6):505-507. doi:10.1002/ajh.21141
99. Audebert HJ, Planck J, Eisenburg M, Schrezenmeier H, Haberl RL. Cerebral ischemic infarction in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria report of 2 cases and updated review of 7 previously published patients. *J Neurol*. 2005;252(11):1379-1386. doi:10.1007/s00415-005-0871-3
100. Granata G, Izzo T, Di Micco P, et al. Thromboembolic events and haematological diseases: a case of stroke as clinical onset of a paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Thromb J*. 2004;2(1):10. doi:10.1186/1477-9560-2-10
101. Koshkaryev A, Barshtein G, Nyska A, et al. 2-Butoxyethanol enhances the adherence of red blood cells. *Arch Toxicol*. 2003;77(8):465-469. doi:10.1007/s00204-003-0471-x
102. Nyska A, Moomaw CR, Ezov N, et al. Ocular expression of vascular cell adhesion molecule (VCAM-1) in 2-butoxyethanol-induced hemolysis and thrombosis in female rats. *Exp Toxicol Pathol Off J Ges Toxikol Pathol*. 2003;55(4):231-236. doi:10.1078/0940-2993-00321
103. von Stuckrad-Barre S, Berkefeld J, Steckel D, Sitzer M. Cerebral arterial thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Neurol*. 2003;250(6):756-757. doi:10.1007/s00415-003-1071-7
104. Macedo ÊS, Parente Filho SLA, Pro JDZ, et al. Renal involvement in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: a brief review of the literature. *Rev Assoc Medica Bras* 1992. 2018;64(12):1139-1146. doi:10.1590/1806-9282.64.12.1139
105. Müller F, Mutch NJ, Schenk WA, et al. Platelet polyphosphates are proinflammatory and procoagulant mediators in vivo. *Cell*. 2009;139(6):1143-1156. doi:10.1016/j.cell.2009.11.001
106. Wiedmer T, Hall SE, Ortel TL, Kane WH, Rosse WF, Sims PJ. Complement-induced vesiculation and exposure of membrane prothrombinase sites in platelets of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 1993;82(4):1192-1196.
107. Luzzatto L, Gianfaldoni G. Recent advances in biological and clinical aspects of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Int J Hematol*. 2006;84(2):104-112. doi:10.1532/IJH97.06117
108. Lewis DA, Nyska A, Potti A, et al. Hemostatic activation in a chemically induced rat model of severe hemolysis and thrombosis. *Thromb Res*. 2006;118(6):747-753. doi:10.1016/j.thromres.2005.11.010
109. Nyska A, Maronpot RR, Long PH, et al. Disseminated thrombosis and bone infarction in female rats following inhalation exposure to 2-butoxyethanol. *Toxicol Pathol*. 1999;27(3):287-294. doi:10.1177/019262339902700304
110. Rønne E, Pappot H, Grøndahl-Hansen J, et al. The receptor for urokinase plasminogen activator is present in plasma from healthy donors and elevated in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol*. 1995;89(3):576-581. doi:10.1111/j.1365-2141.1995.tb08366.x
111. Ninomiya H, Hasegawa Y, Nagasawa T, Abe T. Excess soluble urokinase-type plasminogen activator receptor in the plasma of patients with paroxysmal nocturnal

- hemoglobinuria inhibits cell-associated fibrinolytic activity. *Int J Hematol.* 1997;65(3):285-291. doi:10.1016/s0925-5710(96)00559-2
112. Maroney SA, Cunningham AC, Ferrel J, et al. A GPI-anchored co-receptor for tissue factor pathway inhibitor controls its intracellular trafficking and cell surface expression. *J Thromb Haemost JTH.* 2006;4(5):1114-1124. doi:10.1111/j.1538-7836.2006.01873.x
113. Simak J, Holada K, Risitano AM, Zivny JH, Young NS, Vostal JG. Elevated circulating endothelial membrane microparticles in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol.* 2004;125(6):804-813. doi:10.1111/j.1365-2141.2004.04974.x
114. Helley D, de Latour RP, Porcher R, et al. Evaluation of hemostasis and endothelial function in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria receiving eculizumab. *Haematologica.* 2010;95(4):574-581. doi:10.3324/haematol.2009.016121
115. Ninomiya H, Kawashima Y, Hasegawa Y, Nagasawa T. Complement-induced procoagulant alteration of red blood cell membranes with microvesicle formation in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria (PNH): implication for thrombogenesis in PNH. *Br J Haematol.* 1999;106(1):224-231. doi:10.1046/j.1365-2141.1999.01483.x
116. Ninomiya H, Kawashima Y, Nagasawa T. Inhibition of complement-mediated haemolysis in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria by heparin or low-molecular weight heparin. *Br J Haematol.* 2000;109(4):875-881. doi:10.1046/j.1365-2141.2000.02125.x
117. Huehn C, Righini M, Starobinski M, Angelillo-Scherrer A, de Moerloose P. Are patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria at risk for heparin-induced thrombocytopenia? *J Thromb Haemost JTH.* 2003;1(2):389-390. doi:10.1046/j.1538-7836.2003.00045.x
118. Magnan H, Kayton ML, DiMichele DM, Araten DJ, Kernan NA, Boulad F. Splenic infarction and subsequent splenic rupture in a patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and heparin-induced thrombocytopenia. *Pediatr Blood Cancer.* 2009;53(3):472-474. doi:10.1002/pbc.22058
119. Araten DJ, Notaro R, Thaler HT, et al. Thrombolytic therapy is effective in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a series of nine patients and a review of the literature. *Haematologica.* 2012;97(3):344-352. doi:10.3324/haematol.2011.049767
120. Hill A, Hillmen P, Richards SJ, et al. Sustained response and long-term safety of eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood.* 2005;106(7):2559-2565. doi:10.1182/blood-2005-02-0564
121. Hillmen P, Hall C, Marsh JCW, et al. Effect of eculizumab on hemolysis and transfusion requirements in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med.* 2004;350(6):552-559. doi:10.1056/NEJMoa031688
122. Hitawala AA, Gupta V. Budd Chiari Syndrome. In: *StatPearls.* StatPearls Publishing; 2021. Accessed May 2, 2021. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK558941/>
123. Chatzidavid S, Giannakopoulou N, Diamantopoulos PT, et al. JAK2V617F positive polycythemia vera with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and visceral thromboses: a case report and review of the literature. *Thromb J.* 2021;19(1):16. doi:10.1186/s12959-021-00269-8

124. Meletis J, Terpos E, Samarkos M, et al. Detection of CD55 and/or CD59 deficient red cell populations in patients with aplastic anaemia, myelodysplastic syndromes and myeloproliferative disorders. *Haematologia (Budap)*. 2001;31(1):7-16. doi:10.1163/15685590151092643
125. Nakahata J, Takahashi M, Fuse I, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with myelofibrosis: progression to acute myeloblastic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 1993;12(1-2):137-142. doi:10.3109/10428199309059582
126. Kirito K. Expansion of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in MPLW515L mutation harboring primary myelofibrosis. *Ann Hematol*. 2020;99(11):2707-2709. doi:10.1007/s00277-020-04088-1
127. Hansen NE, Killmann SA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in myelofibrosis. *Blood*. 1970;36(4):428-431.
128. Huang Y, Liu X, Chen F, et al. Prediction of thrombosis risk in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Ann Hematol*. 2019;98(10):2283-2291. doi:10.1007/s00277-019-03770-3
129. Van Bijnen STA, Van Heerde WL, Muus P. Mechanisms and clinical implications of thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Thromb Haemost JTH*. 2012;10(1):1-10. doi:10.1111/j.1538-7836.2011.04562.x