

Norske retningslinjer for diagnostikk og behandling av pasienter med paroksyttisk nattlig hemoglobinuri (PNH)

Eirik Brekka Tjønnfjord
Geir E. Tjønnfjord

Innledning og bakgrunn

Paroksyttisk Nattlig Hemoglobinuri (PNH) er en sjelden hematologisk sykdom. Sikre insidenstall finnes ikke for Norge, men det dreier seg sannsynligvis om ca 5 nye tilfeller per år.

Den eneste kurative behandlingen vi kjenner er allogen stamcelletransplantasjon, men pga. betydelig morbiditet og mortalitet ved allogen stamcelletransplantasjon kombinert med at man hos 10-20% av pasientene ser spontane remisjoner, er denne behandlingen bare aktuell for noen få utvalgte pasienter^{1,2}. Tidligere har behandlingen av sykdommen vært symptomatisk med transfusjoner og antikoagulasjonsbehandling som de viktigste elementene.

I 2007 ble en ny behandling godkjent av EMEA og FDA for pasienter med PNH; et anti-C5 humanisert monoklonalt IgG_{2/4K}-antistoff, eculizumab. Behandling med eculizumab er effektiv, men meget dyr (3-3,5 mNOK/år). Dette har medført et behov for å utarbeide felles nasjonale retningslinjer for diagnostikk og ikke minst behandling av PNH. Det er allerede gjort i en rekke europeiske land.

Hensikten med disse retningslinjene er:

- Utarbeide og vedlikeholde felles nasjonale retningslinjer for utredning og behandling av pasienter med PNH.
- Utarbeide prosedyrer for hvordan norske pasienter med PNH skal vurderes med hensyn til behandling med eculizumab.
- Fremme nasjonal registrering og oppfølging av alle pasienter med PNH i Norge, og dermed bidra til å utvide kunnskapen om sykdommen og dens behandling.
- Medvirke til nasjonal deltagelse i internasjonale behandlingsprotokoller.

Paroksyttisk nattlig hemoglobinuri (PNH)

PNH er en ervervet hemolytisk anemi som er forbundet med betydelig morbiditet og tidlig mortalitet. PNH er karakterisert ved komplementmediert intravaskulær hemolyse og en protrombotisk situasjon^{13,46}. Sykdommen kan utvikle seg uten forutgående benmargssykdom, primær PNH, eller i forbindelse med annen benmargssykdom som f.eks. aplastisk anemi, sekundær PNH⁴. Medianalder ved diagnose er i midten av 30 årene, men sykdommen ses i alle aldre². Sykdommen er progressiv (10-20% går dog i spontan remisjon⁵) og har stor betydning for livskvaliteten hos de aller fleste pasientene. Til tross for best mulig støttebehandling med transfusjoner og antikoagulasjonsbehandling, er PNH fatal hos 35% innen 5 år fra diagnose^{1,2,55}. Sammenlignet med normalbefolkningen har pasienter med PNH 62 ganger økt risiko for tromboemboli (TE) og 6 ganger økt risiko for kronisk nyresvikt, og TE er ansvarlig for 67% av PNH-relaterte dødsfall og kronisk nyresvikt for 8-12%^{46,56-58}.

Gamle erythrocytter fjernes kontinuerlig fra sirkulasjonen hos friske individer i milten (fysiologisk hemolyse). Ved PNH er det en eksessiv hemolyse fordi noen eller alle erythrocyttene (også leukocyttene og trombocytene) mangler overflateproteiner (CD55 og CD59) som beskytter mot komplementmediert celleødeleggelse. Alle blodceller er utsatt for komplementmediert lyses, men erythrocyttene er mest følsomme. Hemolysen ved PNH er en kontinuerlig prosess, men forsterkes ofte under stress eller infeksjon pga. økt tilgang på komplement⁶⁻⁹. Hemolysen, som er intravaskulær, blir ofte kvantitert ved hjelp av LD (laktatdehydrogenase), og økte nivåer av LD indikerer økt hemolyse⁶. Graden av hemolysen er direkte knyttet til morbiditeten og mortaliteten ved PNH.

Det er hel eller delvis mangel på overflatemolekylene CD59 og CD55 på erytrocyttene som gjør dem mottakelige for komplementmediert lyse og dermed intravaskulær hemolyse. PNH pasientenes trombocytter mangler også disse overflatemolekylene, og det medfører at de lettere aktiveres av komplementsystemet. Dette antas å være kausalt knyttet til den økte risikoen for TE. ADP som blir frigjort ved intravaskulær hemolyse spiller også en rolle i aktiveringen av trombocytene, og den reduserte ekspresjonen av urokinase plasminogen aktivator reseptor (u-PAR) og tissue factor pathway inhibitor (TFPI) på granulocytene og monocytene er også muligvis relevant for tromboiserisikoen¹⁰⁻¹². Fritt hemoglobin i plasma antas også å være av betydning for tromboiserisikoen og er dessuten opphav til organskade; spesielt nyreskade som ses relativt hyppig ved PNH^{6,59}. Derfor er et av de viktigste målene ved behandlingen å redusere eller hindre den eksessive hemolysen. Allogen stamcelletransplantasjon er den eneste kurative behandlingen, men det monoklonale antistoffet eculizumab har vist seg særdeles effektivt til å redusere hemolysen og dermed redusere behovet for transfusjoner, øke livskvaliteten og ikke minst redusere risikoen for tromboemboliske episoder^{13,55,59}.

PNH er den eneste hemolytiske anemien som skyldes en ervervet defekt i celledemembranen. Alle celler har proteiner på overflaten som er ansvarlige for en rekke forskjellige funksjoner. Disse proteinene er festet til membranen på flere ulike måter, og ved PNH er en av disse mekanismene defekte^{14,15}. PNH er forårsaket av en ervervet somatisk mutasjon i en hematopoietisk stamcelle, og mutasjonen affiserer fosfatidylinositolglykan klasse A-genet (PIG-A genet) som er lokalisert til X-kromosomet¹⁶⁻¹⁹. PIG-A genet koder for en glucosyltransferase, som er avgjørende for syntesen av glucosylphosphatidylinositol som fungerer som et anker for proteiner (GPI-anker). GPI-ankeret er ansvarlig for bindingen av flere proteiner til hematopoietiske cellers overflate, og den bindingsmekanismen skiller seg fra den vanligste proteinbindingsmekanisme til celleoverflater som innebærer at proteinene er membranbundet via et transmembrant lipofilt domene av proteinet. Vi kjenner i dag mer enn 20 GPI-bundne proteiner (GPI-AP). Blant disse er to komplement regulerende proteiner; CD55 (decay-accelerating factor, DAF) og CD59 (membrane inhibitor of reactive lysis, MIRL) som beskytter hematopoietiske celler, især erytrocyttene, mot destruksjon pga. komplement aktivert via den alternative komplement-aktiveringsveien⁴. CD55 destabiliserer C3-konvertasen, og CD59 hemmer dannelsen av terminalt membran angrepskompleks (MAC) som fører til intravaskulær hemolyse. Mangel på nettopp disse to membranproteinene medfører en markant høyere følsomhet for komplementaktivering og er sentral i patogenesen ved PNH. Det alternative komplementsystemet, som tilhører det innate immunsystem, aktiveres konstant ved proteolyse med dannelse av *C3- og C5-convertaser*, som på cellens overflate fører til aktiveringen av det terminale membran angrepskompleks (MAC, C5b-9) og C5a. CD55 og spesielt CD59 gir cellene beskyttelse mot den konstante dannelsen av C3, C5 og MAC. Fravær av CD55 og CD59 på celleoverflaten, spesielt på erytrocyttene, fører til intravaskulær hemolyse, som er ansvarlig for en stor del av den morbiditeten og mortaliteten vi ser ved PNH og andre tilstander med betydelig intravaskulær hemolyse²⁰.

PNH er tett koblet til aplastisk anemi og andre hypoplastiske benmargssykdommer, spesielt myelodysplastiske syndromer (MDS).

Det antas i dag at en hypocellulær benmarg med insuffisient funksjon (også når den ikke kan erkjennes morfologisk) er en forutsetning for den klonale ekspansjonen av PIG-A muterte hematopoietiske stamceller¹⁹. Forløpsformer med tilsynelatende klassisk PNH som ender i aplastisk anemi og aplastisk anemi som utvikler PNH fenotype er velkjente²¹. En del pasienter med aplastisk anemi har en beskjeden og klinisk ubetydelig PNH klon. Årsaken til dominans av PIG-A gen muterte stamceller over ikke-muterte stamceller i noen situasjoner og den tette relasjonen mellom PNH og aplastisk anemi er ennå ikke

avklart. PIG-A genmutasjoner forekommer ikke sjelden også hos normale²²⁻²³, men det kreves sannsynligvis en suppresjon (immunologisk mediert) av den normale hematopoiesen for at PNH-fenotypen blir dominant. Hvordan PNH-celler "spares" er ikke klarlagt. En annen hypotese er at ekspansjonen er resultatet av en sekundær mutasjon i tillegg til PIG-A gen mutasjonen. Et kandidat-gen er HMGA2, hvor der er påvist mutasjoner. Genet koder for en transkripsjonsfaktor som er dysregulert ved flere benigne mesenchymale tumorer²⁴.

Klassifikasjon av PNH

PNH er operasjonelt inndelt som følger;

- A. Klassisk PNH
- B. PNH som ledd i annen benmargssykdom (f.eks. PNH/Aplastisk anemi eller PNH/MDS)
- C. Subklinisk PNH (PNH-sc) som ledd i annen benmargssykdom

Ad A.

Disse pasientene har tydelige tegn på intravaskulær hemolyse, men ingen tegn på annen benmargssykdom. Margen vil typisk være normo- til hyperplastisk med ekspandert erytropoiese. Cytogenetisk undersøkelse av benmargaspirat viser en normal mannlig eller kvinnelig karyotype, og det er ingen morfologiske tegn til dysplasi.

Ad B.

Det finnes kliniske og laboratoriemessige tegn på intravaskulær hemolyse, og pasienten har i tillegg en del av en veldefinert benmargssykdom som f.eks. aplastisk anemi (AA), myelodysplastisk syndrom eller kronisk myeloproliferativ sykdom. Cytogenetiske forandringer (abnorm karyotype) kan forekomme, men forandringene er koblet til de nevnte sykdommene.

Ad C.

Hos denne gruppen er det ingen kliniske eller biokjemiske tegn på intravaskulær hemolyse. Benmargundersøkelse viser en veldefinert, vanligvis hypoplastisk benmargssykdom (f.eks. AA, MDS etc.), og man kan også finne cytogenetiske forandringer relatert til disse benmargssykdommene. Ved væskestrømscytometri påvises en liten klon med PNH-celler.

En slik klassifikasjon gjør at sykdommen og pasientene kan sammenlignes på tvers av behandlingssentre og avdelinger. Inndeling kan også delvis brukes terapeutisk, idet det først og fremst er pasienter med klassisk PNH som ser ut til å ha den største effekten av behandling med eculizumab.

Diagnostikk ved PNH

Tidligere benyttet man Hams test (PNH erytrocytters komplementfølsomhet ved surgjort serum) eller Sucrose hemolyse test (komplementbinding ved lav ionstyrke) som diagnostiske tester ved PNH, men disse testene er besværlige å gjøre og har lav spesifisitet og sensitivitet. Man kan heller ikke kvantitere PNH-klonens størrelse korrekt ved disse metodene.

I dag baserer man diagnosen på væskestrømscytometri²⁵⁻²⁹. Denne metoden påviser enten mangel på GPI-bundne membranproteiner på målcellene eller mangel på GPI-molekyler i cellemembranen. Teknikken anvender en kombinasjon av monoklonale fluorescerende antistoffer med spesifisitet for GPI-bundne membranproteiner. Metoden er perfektionert ytterligere ved den såkalte FLAER-teknikken (fluorescerende aerolysin reagens) hvor reagentet binder seg direkte til GPI-molekylene.

PNH kan diagnostiseres ved undersøkelse av både erytrocytter, granulocytter og monocytter. Det anbefales at man bruker minst to cellyper ved diagnosen og at man undersøker for minst to GPI-bundne membranproteiner for å unngå falsk positive resultater pga. en arvelig mangel på CD59 som forekommer en sjelden gang med en fenotype som ligner på PNH^{19, 20}.

Ved undersøkelse av erytrocytter vil man kunne påvise celler med total mangel på GPI-bundne membranproteiner (PNH III-celler), celler med sterkt redusert mengde GPI-bundne membranproteiner, ca. 10% (PNH II-celler) og celler med normal ekspresjon av GPI-bundne membranproteiner (PNH I-celler). For å unngå fortynning av mengden av PNH celler bør man unngå blodtransfusjon umiddelbart før undersøkelsen. Ofte vil klonstørrelsen underestimeres ved undersøkelse erytrocyttene fordi det er høy omsetning erytrocytter pga. den intravaskulære hemolysen. Ved væskestrømscytometri av erytrocytter benyttes anti-CD59 og anti-CD55 antistoffer.

Granulocyttnedbrytningen er mer stabil, og levetiden for granulocytter er i motsetning til levetiden for erytrocytter ikke vesentlig redusert³⁰. Man får derfor et bedre bilde av PNH-klonens størrelse ved å undersøke granulocytterne. Resultat vil heller ikke være påvirket av transfusjoner. Brukes CD55 og CD59 som markører for PNH har det vist seg at variasjonskoeffisienten blir stor og klon størrelsen underestimeres sammenlignet med undersøkelse av CD24 og CD16²⁷. Den nyeste analysen, FLAER, utnytter at et bakterielt toksin, aerolysin, bindes til GPI-ankret. Denne analysen er sannsynligvis den beste metoden for å kvantitere klonstørrelsen når den anvendes på granulocytter³¹.

Ved analyse av monocytter benyttes undersøkelse av CD14 og FLAER.

Undersøkelsene bør fortrinnsvis gjøres på blod og ikke benmarg.

Benmargsundersøkelse bør inngå som del av utredningen, og undersøkelsen bør omfatte benmargstryk, benmargsbiopsi og cytogenetisk undersøkelse av benmargspirat. Hensikten med benmargsundersøkelsen er å avklare cellularitet (aplasi/hypoplasi) og om det er tegn til myelodysplasi eller annen benmargssykdom.

Undersøkelser for mutasjoner i PIG-A genet er foreløpig ikke tilgjengelige rutineundersøkelser.

Behandling av pasienter med PNH

Behandling for å redusere hemolysen eller konsekvensen av hemolysen

Som ved andre hemolytiske sykdommer er det viktig å tilføre byggesteiner til dannelse av nye erytrocytter, og det anbefales av erfarne klinikere å gi folsyretilskudd. Anbefalingen om folsyretilskudd til alle er ikke dokumentert i kliniske studier verken når det gjelder PNH eller andre hemolytiske anemier.

På grunn av den betydelige intravaskulære hemolysen og følgende hemoglobinuri og hemosiderinuri har pasientene oftest et betydelig jerntap i urinen, og mange av pasientene utvikler jernmangel. Til tross for at jernbehandling kan utløse eller forverre hemolysen, er det sjelden et problem av klinisk betydning³⁶.

Jerntilskudd kan gis både som tabletter eller parenteralt, men det anbefales å bruke tabletter som førstevalg, fordi problemet med økt hemolyse ser ut til at være størst ved bruk av parenteral tilførsel. Kortikosteroidbruk er kontroversielt men noen få pasienter har effekt av Prednisolon 0,25-1 mg/kg og hemolysen opphører/redueres raskt, men midlertidig³⁵⁻³⁶. Ofte kan behandlingen avsluttes etter få dager hos responderne. Virkningsmekanismen er ukjent, men fordi responsen kommer raskt er en anti-komplement effekt mulig forklaring. Problemet med steroider er bivirkninger ved langtidsbruk, og behandling med kortikosteroider anbefales ikke rutinemessig.

Behandling med androgener har vært forsøkt med effekt på anemien hos et mindretall av pasientene. Virkningsmekanismen er også her ukjent, men antas å være den samme som ved kortikosteroider. Effekten kommer hurtig, og Danazol har vært førstevalget pga. mindre langtidsrisiko.

Antikoagulasjonsbehandling

Det er evidens for en korrelasjon mellom PNH-klonens størrelse og risikoen for tromboser, selv om tromboserisikoen er øket uansett klonstørrelse³⁷⁻³⁸. I en studie³⁷ er det vist at pasienter med stor PNH-

klon som fikk antikoagulasjonsbehandling hadde en signifikant mindre risiko for tromboser. På bakgrunn av dette er det derfor mange som velger å gi profylaktisk antikoagulasjonsbehandling til PNH pasienter med en stor PNH-klon (>50%), også i tilfeller hvor det ikke tidligere har vært tromboemboliske komplikasjoner³. Begrunnelsen for denne strategien er at den første trombosen kan være fatal eller svært alvorlig.

Selv om pasientgruppen har nytte av antikoagulasjonsbehandling er det pasienter som tross adekvat antikoagulasjonsbehandling utvikler tromboser, og flere nye studier har vist en klart forhøyet risiko for tromboemboliske episoder tross antikoagulasjonsbehandling^{6,40,43,46}. Hos pasienter som starter behandling med eculizumab ser det ut som det er trygt å stoppe antikoagulasjonsbehandlingen⁵⁹.

Hemning av komplementsystemet

Eculizumab, et humanisert monoklonalt antistoff med spesifisitet for komplementfaktor C5, er i tre studier vist effektivt å redusere hemolysen ved PNH⁴⁰⁻⁴⁴.

Virkningsmekanismen er koblet til stoffets binding til komplementfaktor C5 og dermed forhindres dannelsen av C5b-9 (MAC) og C5a. En tidlig studie⁴⁰⁻⁴¹ viste i tillegg til en markant reduksjon av hemolysen målt ved LD også reduksjon i transfusjonsbehovet, reduksjon i antall anfall med hemoglobinuri og en klar bedring i livskvaliteten. TRIUMPH-studien, en fase III studie med 87 PNH-pasienter viste signifikant reduksjon av hemolysen og transfusjonsbehovet sammenlignet med placebogruppen⁴². Studien viste også signifikant bedret livskvalitet. Oppfølgingstudien SHEPARD, en ikke-randomisert sikkerhets- og effektivitetsstudie bekreftet resultatene fra de to foregående studiene⁴³⁻⁴⁴.

Seinere er det foretatt oppfølgingsstudier av pasientene i de tre nevnte studiene, og alle har vist en betydelig reduksjon i trombotiske hendelser hos de pasientene som ble behandlet med eculizumab sammenlignet med placebogruppen og de ubehandlede^{45,59}. Lignende undersøkelser tyder også på at nyrefunksjonen kan forbedres^{46,59} og pulmonal hypertensjon reverseres⁴⁷. Sammenlignet med historiske kontroller bedres leveutsiktene dramatisk ved behandling med eculizumab^{55,59}.

De foreliggende studiene tyder på størst effekt av eculizumab ved klassisk PNH, fordi det kun er hemolysen og medfølgende komplikasjoner som påvirkes, mens den underliggende benmargssykdommen ikke påvirkes³⁹. Anemien normaliseres derfor sjelden, men bedres noe fordi hemolysen reduseres som indikert ved et markant fall i LD. LD stabiliseres oftest omkring 1,5-2 x øvre normalgrense.

Det finnes tegn på at, som følge av mangelen på CD55, det kommer en opphopning av C3-fragmenter på erytrocyttoverflaten og hos en del pasienter er direkte antoglobulin test (DAT) positiv for C3d, og pasientene kan ha en lett ekstravaskulær hemolyse⁴⁸.

Eculizumab gis som intravenøs infusjon, 600 mg en gang ukentlig fire ganger, mens det ved den femte infusjonen gis 900 mg som deretter gjentas hver 14. dag^{39,59}. Bivirkningen er så langt funnet beskjedne, men vel halvparten opplever sår hals i starten og samme andel har lett hodepine. Infusjonsrelaterte bivirkninger som feber og frysninger, som er ganske vanlige ved rituximab og alemtuzumab, forekommer ikke. Den alvorligste bivirkning er infeksjon med *Neisseria meningitidis*. Dette skyldes at det terminale MAC, C5b-9 er helt avgjørende for bekjempelsen av mikroorganismer av *neisseria* familien. Derimot er det proksimale komplementsystemet som er ansvarlig for opsonisering av mikroorganismer og fjerning av immunkomplekser intakt. Det anbefales derfor at pasientene som skal behandles med eculizumab blir vaksinert med tetravalent *Neisseria meningitidis* vaksine. Den vanligste sykdomsfremkallende subtypen av *Neisseria meningitidis* i vår del av verden er serogruppe B som ikke inngår i vaksinen. Blant annet i England anbefales derfor profylaktisk behandling med fenoksymetylpenicillin. Et alternativ kan være å utstyre pasientene med fenoksymetylpenicillin-tabletter og instruksjon om å starte egenbehandling ved tegn til luftveisinfeksjon eller andre initiale tegn til infeksjon med *Neisseria meningitidis*.

Graviditet og PNH

Graviditet hos PNH-pasienter og risikoen for morbiditet og mortalitet, ikke minst risikoen for tromboser, har ikke vært evaluert i noen av de studiene som foreligger. Data tyder likevel på at det er en assosiasjon mellom PNH og økt maternell og føtal morbiditet og mortalitet³⁴. Prematuritet og tidlig abort er vanlig i de få tilfeller man kjenner.

Håndteringen av graviditeten krever et tett samarbeid mellom hematolog og obstetriker med erfaring med risikograviditeter.

Det største problemet kan være å skille mellom forverring i PNH tilstanden og preeklampsi symptomer med mikroangiopatisk hemolyse og trombocytopeni – inklusive HELLP-syndromet⁴³⁻⁴⁵.

Et annet problem er behovet for tilskudd med jern og folsyre som må antas å være enda høyere enn hos andre gravide.

Det finnes ingen prospektive, randomiserte undersøkelser som belyser betydningen av antikoagulasjonsbehandling under graviditeten. Flere sentre benytter likevel antikoagulasjonsprofylakse i form av lavmolekylært heparin (LMWH) så snart graviditeten er påvist.

Følgende strategi kan anbefales;

- Prinsipielt anbefales profylakse med LMWH gjennom hele graviditeten, f.eks. dalteparin 175 IE/kg. Dette gjelder som hovedregel for alle pasienter med en PNH klon > 50%, tidligere trombotilfeller eller andre pasienter som vurderes til å ha spesielt høy risiko for tromboser. Det er ingen data som støtter monitorering med måling av anti-FXa.
- Behovet for antikoagulasjonsbehandling hos pasienter med kloner < 50% er ennå uavklart, men noen anbefaler profylakse med en mindre dose, f.eks. dalteparin 100 IE/kg.
- I postpartum perioden hvor tromboserisikoen er størst er det flere som anbefaler høy dose til alle pasientene, men det foreligger heller ikke her dokumentert evidens.
- LMWH seponeres 24 timer innen fødselen, som bør være planlagt. Behandlingen gjenopptas etter 1-2 døgn, avhengig av en vurdering av blødningsrisikoen. LMWH bør kontinuieres i minst tre måneder etter fødselen for deretter å erstattes av peroral behandling i form av f.eks. warfarin hos de av pasientene som er i særlig risiko eller har en klon > 50%.
- Pasienter som har hatt en trombotisk episode umiddelbart før fødselen er spesielt utsatt for nye tromboser og her kan det anbefales å erstatte LMWH med iv. heparinbehandling; infusjon av ufraksjonert heparin under kontroll av aPTT. Denne behandlingen kan opprettholdes helt til 6 timer før fødselen, og erstattes med LMWH post partum.

Det foreligger ennå ingen publiserte data som dokumenterer at eculizumab kan anvendes under graviditeten, og produsenten – Alexion – anbefaler det ikke. PNH-gruppen i Leeds har etter hvert erfaring med 10 fødsler hos åtte PNH-pasienter som har fått behandling med eculizumab under hele eller deler av svangerskapet uten uheldige forløp³⁴. Erfaringene deres (Hill, personlig meddelelse) er så gode at de anser graviditet som en av indikasjonene for eculizumab behandling. Så langt har vi erfaring fra en kvinne som har fått behandling med eculizumab under graviditeten i Norge, og svangerskap og fødsel forløp uten komplikasjoner.

Eculizumabs design er en Fc-hybrid av IgG₂ og IgG₄ komponenter. IgG₂ passerer placentamembranen dårlig og data fra Leeds tyder på at eculizumab i ingen eller kun sparsomme mengder passerer over placentamembranen og over i fosteret³⁴. Det samme gjelder for brystmelk³⁴.

Allogen stamcelletransplantasjon

Den eneste kurative behandling er allogen stamcellemargstransplantasjon⁴⁹. Yngre pasienter med betydelig pancytopeni og/eller med livstruende trombotilfeller har hittil vært kandidatene til denne behandlingen. Både myeloablative og non-myeloablative kondisjonering med HLA-identisk familiedonor

eller ubeslektet donor har vært brukt med suksess⁵⁰⁻⁵⁴. Imidlertid er behandlingen forbundet med høy risiko. I en retrospektiv undersøkelse fra the International Bone Marrow Transplantation Registry (IBMTR) var 2-års overlevelsen for 48 pasienter transplantert med HLA-identisk søsken donor 56%⁵⁰. En EBMT-studie har vist 5-års overlevelse på 70%, men i denne studien hadde kun 54% av pasientene klassisk PNH, mens resten hadde AA/PNH-syndrom⁴⁹.

I en nyere italiensk studie var den transplantasjonsrelaterte mortaliteten 42%, men omstendighetene ved transplantasjonene var meget inhomogene⁵¹. Femten pasienter fikk myeloablativ kondisjonering og transplantasjon med HLA-identisk søskendonor, og 11 pasienter mottok non-myeloablativ kondisjonering og transplantat fra HLA-identisk søsken donor hos 7, HLA-identisk ubeslektet donor hos 1, haploidentisk donor hos 1 og ett antigen mismatch donor hos 2 (1 søsken og 1 ikke-familierelatert). Etter at eculizumab ble introdusert i 2007 som "targeted"-behandling er antallet transplantasjoner redusert, bl.a. som følge av den betydelige morbiditeten og mortaliteten relatert til transplantasjon.

Anbefalinger for diagnostikk og behandling av pasienter med PNH i Norge

Hvem skal/bør undersøkes for PNH

- Alle med uforklarlig hemoglobinuri.
- Alle pasienter med DAT-negativ hemolytisk anemi, dersom det ikke er en annen åpenbar årsak. Undersøkelse for PNH er spesielt relevant dersom det ikke finnes cellulære abnormiteter som sfærocytter, sigdceller etc. Foreligger det jernmangel og hemolyse utgjør det en særlig indikasjon.
- Uavklarte trombotiske manifestasjoner, især i usedvanlige kargebeter (f.eks. intraabdominelle vener, Budd-Chiari syndrom eller venøse cerebrale tromboser).
- Pasienter med pancytopeni hvor det mistenkes aplastisk eller hypoplastisk anemi.
- Pasienter med MDS og hvor dysplasien bare omfatter en linje.

Diagnostikk

Diagnosen er basert på påvisning av manglende GPI-bundne membranproteiner eller GPI-anker på overflaten av modne myeloide celler ved væskestrømscytopetri.

- Prøvematerialet skal være EDTA-blod. Benmarg anbefales ikke fordi ekspresjonen av GPI-bundne membranproteiner er avhengig av cellenes differensieringsgrad.
- Undersøkelsen bør gjennomføres så hurtig som mulig etter prøvetagning og maksimalt innenfor 48 timer. Prøven oppbevares ved 4°C.
- Det anbefales å undersøke for GPI-bundne membranproteiner på minimum to celletyper, optimalt granulocytter og erytrocytter, men monocytter kan også brukes. Granulocytterne anvendes til bestemmelse av PNH-klonens størrelse, mens erytrocyttene brukes til en vurdering av fordelingen av PNH I, - II og - III celler.
- Grunnen til at man helst vil ha to proteiner og to celletyper undersøkt for GPI-bundne membranproteiner er risikoen for feiltolkning pga. kongenitt defekt av et av de nevnte GPI-bundne membranproteiner (CD59) og for å redusere risikoen for tekniske problemer.

Oppfølging av væskestrømscytopetri

Ut fra de studier som finnes anbefales det at man utfører en kvantitativ vurdering av PNH-klonens størrelse en gang årlig fordi spontan remisjon forekommer eller for å forklare plutselige endringer i tilstanden/klinikken.

Benmargsundersøkelse

Det anbefales å utføre en benmargsundersøkelse ved diagnose for å vurdere cellularitet, dysplastiske forandringer og cytogenetiske forandringer.

Behandling

1. Pasienter med PNH bør ha et tilskudd av *folsyre*, men anbefalingen er ikke dokumentert hos pasienter uten påvist mangel.
2. Dersom det foreligger jernmangel, er *jerntilskudd* indisert. Tidligere tiders bekymring for økt hemolyse i forbindelse med ekstra jern er ikke lengre en kontraindikasjon og bør ikke forhindre behandling.
3. Transfusjonsbehandling er symptomatisk og gis ved behov. Det anbefales dog en konservativ transfusjonspolitik.

4. Har pasientene hatt en trombose er det indikasjon for antikoagulasjonsbehandling (*warfarin*), mens profylaktisk antikoagulasjonsbehandling er omdiskutert. Retrospektive studier støtter dog behandlingen hos pasienter med store PNH kloner (>50%). Eculizumab ser ut til å ha en betydelig antitrombotisk effekt, og det anbefales ikke å starte antikoagulasjonsbehandling hos pasienter som allerede har startet eculizumab-behandling så sant det ikke oppstår et trombosegjennombrudd. Motsatt ser det ut til at man kan stoppe antikoagulasjonsbehandlingen etter oppstart av *eculizumab*.
5. Antikonsepsjon til kvinner bør ikke inneholde østrogen.

Eculizumab behandling:

Behandlingen med Eculizumab er svært kostbar, og fordi mange pasienter har et mildt forløp bør behandlingen inntil videre reserveres til de med den mest alvorlige fenotypen.

Til følgende pasienter kan eculizumab anbefales:

- Pasienter med kronisk anemibetinget tretthet som er så alvorlig at den har store sosiale konsekvenser, inkludert arbeids- og utdanningsmessige konsekvenser.
- Pasienter med vedvarende og regelmessig transfusjonsbehov.
- Pasienter med hyppige og smertepregede paroksysmer, typisk i form av abdominalsmerter.
- Pasienter med dokumentert tromboemboli uten annen betydelig trombofili.
- Pasienter med organdysfunksjon, f.eks. pulmonal hypertensjon, nyreskade, alvorlig dysfagi og/eller invalidiserende erektil dysfunksjon som skyldes PNH.

For pasienter som behandles med eculizumab gjelder følgende forholdsregler:

- Pasientene skal vaksineres med tetravalent meningokokkvaksine minst 2 uker før oppstart av behandlingen. Vaksinasjonen skal gjentas hvert tredje år. Det er dessuten viktig å informere pasientene om å søke lege ved kliniske tegn på infeksjon i luftveiene.
- Pasientene bør utstyres med et kort/dokument om behandling med eculizumab.
- Pasientene bør kontrolleres med væskestrømscytometri årlig.

Allogen stamcelletransplantasjon/immunosuppressiv behandling:

Pasienter med PNH/AA eller PNH/MDS har ikke den samme gode effekten av eculizumab som pasienter med klassisk PNH. Her bør man i stedet rette behandlingen mot den underliggende benmargssykdommen.

Pasienter med alvorlig Aplastisk Anemi og PNH behandles etter vanlige retningslinjer for behandling av aplastisk anemi. Yngre pasienter (<40 år) med HLA-identisk donor kan tilbys allogen stamcelletransplantasjon.

Hos eldre pasienter velges i stedet immunosuppressiv behandling med ATG og ciklosporin.

Immunosuppressiv behandling er minst like effektiv hos pasienter med PNH/AA som pasienter med AA uten tegn til PNH-klon.

Forøvrig foreligger følgende retningslinjer for allogen stamcelletransplantasjon;

- Pasienter med klassisk PNH som til tross for eculizumab-behandling stadig har alvorlig hemolyse og trombocytopeni.
- Pasienter med PNH og alvorlig MDS.

Organiseringen av PNH i Norge

PNH er en meget sjelden sykdom og den kompliserte og kostbare behandlingen gjør sykdommen til en spesialist oppgave. Det er derfor viktig at organiseringen og behandlingen av PNH sentraliseres (regionsykehus) og samles så de pasienter som lider av sykdommen kan diagnostiseres tidlig og få den optimale behandling og oppfølging.

Behandlingen er svært kostbar. Det er derfor viktig at pasientene vurderes og behandles etter felles retningslinjer.

I Norge deltar vi i et internasjonalt register for PNH pasienter og det anbefales at alle pasienter innrapporteres til Oslo, Universitetssykehus, Rikshospitalet og registreres, så vi kan få flest mulige opplysninger om sykdommen og dermed optimalisere behandling og oppfølging.

Referanseliste:

1. Hillmen P, Lewis SM, Bessler M et al. Natural history og paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 1995; 333: 1253-8.
2. Socie G, Mary J-Y, Gramont A. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: long-term follow-up and prognostic factors. *Lancet* 1996; 348: 573-77.
3. Hall C et al. Primary prophylaxis with warfarin prevents thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) *Blood* 2003;102:3587-3591
4. Kumar V et al. *Robbins Basic Pathology* (8th edition). Saunders Elsevier 2007.
5. Dansk guidelines for behandling af patienter med paroxystisk nokturn hæmoglobinuria. 2011
6. Hillmen P, Young NS, Schubert J, et al. The complement inhibitor eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 2006;355:1233-1243
7. Hillmen P, Lewis SM, Bessler M, Luzzatto L, Dacie JV. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 1995;333:1253-1258.
8. Hill A, Richards SJ, Hillmen P. Recent developments in the understanding and management of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol.* 2007;137:181-192
9. Rother RP, Bell L, Hillmen P, Gladwin MT. The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin: a novel mechanism of human disease. *JAMA* 2005; 293:1653-1662
10. Ploug MP et al. The receptor for urokinase-type plasminogen activator is deficient on peripheral blood leukocytes in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 1992; 79: 1447-55
11. Hugel B et al. Elevated levels of circulating procoagulant microparticles in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and aplastic anemia. *Blood* 1999; 93: 3451-3456
12. Galnack HR et al. Activated platelets in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Br J Haematol.* 1995; 91: 697-702
13. Brodsky RA. How I treat paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2009; 113 (26): 6522-27
14. Rother RP et al. The clinical sequale of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin: a novel mechanism of human disease. *JAMA* 2005;293 (13): 1653-62
15. Parker C et al. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hæmoglobinuria. *Blood* 2005; 106 (12): 3699-709.
16. Hill A et al. Effect of eculizumab on haemolysis-associated nitric oxide depletionm dyspnoe and measures of pulmonary hypertension in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Brit J Haematol* 2010; 149: 414-25
17. Brodsky R. Advances in the diagnosis and therapy of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood Reviews* 2008; 22: 65-74
18. Parker C et al. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2005; 106: 3699-3709
19. Hillmen P. Implications of recent insights into the pathophysiology of parocysmal nocturnal hemoglobinuria. *Br J Haematol* 2000; 108: 470-9
20. Rother RP et al. The clinical sequel of intravascular hemolysis and extracellular hemoglobin. *JAMA* 2005; 293: 1653-62
21. Peffault de Latour R et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: natural history of disease subcategories. *Blood* 2008; 112: 3099-3106
22. Araten DJ et al. Clonal populations of hemopoietic cells with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria genotype and phenotype are present in normal individuals. *PNAS* 1990;96: 5209-14
23. Hu R et al. PIG-A mutations in normal hematopoiesis. *Blood* 2005; 105: 3848-54

24. Inoue N et al. Molecular basis of clonal expansion of hematopoiesis in 2 patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2006; 108: 4232-6
25. Schubert J, Alvarado M, Uciechowski P et al. Diagnosis of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria using immunophenotyping of peripheral blood cells. *Brit J Haematol* 1991; 79: 487-92.
26. Richards SJ, Rawstron AC, Hillmen P. Application of flow cytometry to the diagnosis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Cytometry* 2000; 42: 223-233.
27. Borowitz MJ, Craig FE, DiGiuseppe JA et al. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. *Cytometry Part B* 2010; 78B: 211-30
28. Van der Schoot CE, Huizinga TW et al. Deficiency of glycosyl-phosphatidylinositol-linked of leukocytes in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, description of a new diagnostic cytofluorometric assay. *Blood* 1990; 76: 1853-9
29. Plesner T, Hansen NE, Carlsen K. Estimation of PI-bound proteins on blood cells from PNH patients by flow cytometry. *Br J Haematol* 1990; 75: 585-90.
30. Brubaker LH, Essig LRJ, Mengel CE. Neutrophil life span in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 1977; 50: 657-62.
31. Brodsky RA, Mukhina GL, Li S et al. Improved detection and characterization of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria using fluorescent aerolysin. *Am J Clin Path* 2000; 114: 459-66.
32. Bjorge L, Ernst P, Haram K. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in pregnancy. *Acta Obst Gynecol Scand* 2003; 82: 1067-71
33. Danilov AV, Brodsky RA, Craigo S, Smith H, Miller KB. Managing a pregnant patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in the era of eculizumab. *Leuk Res* 2010; 34: 566-71.
34. Kelly R et al. The management of pregnancy in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria on long-term eculizumab. *Br J Haematol* 2010; 149(3):446-60.
35. Issaragrisil S, Piankilagum A, Tang-naitrisorana Y. Corticoids therapy in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Am J Hematol* 1987; 25: 77-83.
36. Rosse WF. Treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 1982; 60: 2023.
37. Hall C, Richards S, Hillmen P. Primary prophylaxis with warfarin prevents thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). *Blood* 2003; 102: 3587-91
38. Moyo VM, Mukhina GL, Garrett ES. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria using modern diagnostic assays. *Brit J Haematol* 2004; 126: 133-38.
39. Parker C. Eculizumab for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Lancet* 2009; 373: 759-67
40. Hillmen P, Hall C, Marsh JCW et al. Effect of eculizumab on hemosysis and transfusion requirements in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 2004; 350: 552-9.
41. Hill A, Hillmen P, Richards SJ et al. Sustained response and long-term safety of eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2005; 106: 2229-65.
42. Hillmen P et al. Effect of the complement inhibitor eculizumab on thromboembolism in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2007; 110: 4123-8
43. Brodsky RA, Young NS, Antonioli E et al. Multicenter phase 3 study of the complement inhibitor eculizumab for the treatment of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2008; 111: 1840-7
44. Schubert J, Hillmen P, Roth A et al. Eculizumab, a terminal complement inhibitor, improves anaemia in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol* 2008;
45. Hillmen P, Muus P, Duhrsen U et al. Effect of the complement inhibitor eculizumab on thromboembolism in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2007; 110: 4123-8.

46. Hillmen P, Elubute 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: 553-9
47. 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: 414-25.
48. Hill A, Rother RP, Arnold L et al. Eculizumab prevents intravascular hemolysis in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and unmasks low-level extravascular hemolysis occurring through C3 opsonization. *Haematologica* 2010; 95: 567-73
49. Brodsky RA. Stem cell transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Haematologica* 2010; 95: 855-6
50. Saso R, Marsh J, Cecreska L et al. Bone marrow transplants for paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol* 199; 104: 392-6
51. Santarone S, Bacigalupo A, Risitano AM et al. Hemopoietic stem cell transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: long-term results of a retrospective study on behalf of the Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo (GITMO). *Haematologica* 2010; 95: 983-8
52. Brodsky RA, Luznik L, Bolanos-Meade J et al. Reduced intensity HLA-haploidentical BMT with post transplantation cyclophosphamide in non-malignant hematologic diseases. *Bone Marrow Transplant* 2008; 42: 5237.
53. Suenaga K, Kanda Y, Niiya H et al. Successful application of non-myeloablative transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Exp Hematol* 2001; 29: 639-42
54. Woodard P, Wang W, Pitts N et al. Successful unrelated donor bone marrow transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Bone Marrow Transplant* 2001; 27: 589-92.
55. Kelly RJ et al. Long-term treatment with eculizumab in: sustained efficacy and improved survival. *Blood* 2011; 117:6786-92.
56. McKeage K. Eculizumab: a review of its use in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Drugs* 2011;71:2327-45
57. Clark DA et al. The kidneys in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 1981;57:83-9
58. Nishimura J et al. Clinical course and flow cytometric analysis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in the United States and Japan. *Medicine* 2004;83:193-207
59. Hillmen P 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
60. Kelly R et al. The management of pregnancy in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria on long-term eculizumab. *Br J Haematol* 2010;149:446-50