

Пароксизмална нощна хемоглобинурия – диагноза, клинична картина и нови терапевтични възможности

Елина Белева

*Клиника по Хематология, Военномедицинска академия, София
QSAR и молекулно моделиране, Институт по Биофизика и
биомедицинско инженерство, Българска академия на науките*

Резюме

Пароксизмалната нощна хемоглобинурия (ПНХ) е хронично мултисистемно, прогресивно и животозастрашаващо заболяване, което се характеризира с вътресъдова хемолiza, тромботични инциденти, тежки инфекции и костно-мозъчна недостатъчност. ПНХ е рядко заболяване с очаквана болестност по данни за Orphanet 2/100 000.

Парадигмата в лечението на ПНХ се променя с въвеждането на комплементна блокада посредством анти-C5 антитела и инхибитори на проксимални компоненти на комплемента. Блокадата на комплемента постига значима редукция на тромботичните усложнения, стабилно ниво на хемоглобин, контрол на хемолизата и подобряване качеството на живот при пациентите с ПНХ. Лечението с комплементни инхибитори подобрява свързаните с ПНХ органни усложнения като бъбречна недостатъчност и пулмонална хипертония.

В настоящия обзор са обобщени и представени актуални насоки за лечение на ПНХ, публикувани от международни и европейски национални дружества по хематология, както и са сравнени индикации за започване и преустановяване на терапия с анти-C5 инхибитори според ПНХ работни групи в редица европейски държави.

Ключови думи: хемоглобинурия, пароксизмална, комплемент инактивиращи агенти

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria – diagnosis, clinical picture and new therapeutic options

Elina Beleva

*Clinic of Hematology, Military Medical Academy, Sofia
QSAR and Molecular Modeling, Institute of Biophysics and Biomedical
Engineering, Bulgarian Academy of Sciences*

Abstract

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is a chronic multisystem, progressive and life-threatening disease which is characterized by intravascular hemolysis, thrombotic complications, severe infections and bone marrow failure. PNH is a rare disease with estimated prevalence of 2/100 000 by Orphanet data.

Treatment paradigm of PNH has changed with the introduction of complement inhibition by anti-C5 antibodies and proximal complement inhibitors. Complement inhibition has led to significant reduction of thrombotic episodes, stabilization of hemoglobin, control of hemolysis and quality of life improvement for patients with PNH. Treatment with terminal complement inhibitors has been shown to improve disease complications such as renal dysfunction and pulmonary hypertension.

Current review has aimed to summarize contemporary PNH treatment guidelines published by international and national European hematology societies. Furthermore, presented are indications for initiation and discontinuation of anti-C5 antibodies according to recommendation by PNH working groups in several European countries.

Keywords: hemoglobinuria, paroxysmal, complement inactivating agents

Кореспонденция:

Д-р Елина Белева, гм
e-mail: elina@biomed.bas.bg

Correspondence:

Dr. Elina Beleva, MD, PhD
e-mail: elina@biomed.bas.bg

Въведение

Пароксизмалната нощна хемоглобинурия (ПНХ) е хронично, мулти-системно, прогресивно и животозстрашаващо заболяване, което се характеризира с вътресъдова хемолиза, тромботични инциденти, тежки инфекции и костно-мозъчна недостатъчност [1]. ПНХ възниква вследствие клонално нарушение на стволовите клетки и разрастване на популация хемопоетични клетки с намалена до липсваща мембранна експресия на гликозилфосфатидил-инозитол (GPI) свързани протеини [2]. Дефицитът на GPI-свързани протеини се дължи на соматични мутации в X-свързания *PIG-A* ген (*phosphatidylinositol glycan class A gene*) на стволовите клетки [3]. *PIG-A* генът кодира ензим, необходим за биосинтезата на GPI, чрез който редица протеини се прикрепват към клетъчната мембрана [4]. При ПНХ клетките (*PIG-A* мутантни) липсва мембранна експресия на всички GPI-свързани протеини, включително два основни регулаторни протеина на комплементната каскада: CD55 – фактор, ускоряващ разпадането на комплемента и CD59 – инхибитор на мембрано-атакуващия комплекс [5]. Отсъствието на двата регулаторни протеина по повърхността на формените елементи на кръвта (еритроцити, левкоцити и тромбоцити) ги прави изключително податливи на комплемент-медирана лиза [6-7]. В резултат на комплементната свръхактивация като водеща изява на клиничната картина се наблюдават вътресъдова хемолиза, цитопении и тромбози.

ПНХ е клинична диагноза, която трябва да бъде потвърдена чрез флуцитометрия (ФЦМ) на периферна кръв, за да се докаже загуба или тежък дефицит на GPI-свързани протеини в >2 клетъчни линии [8]. Съгласно препоръките на Международното дружество по клинична цитометрия (ICCS) клинично обосновано е да се извърши ПНХ скрининг чрез ФЦМ при пациенти с лабораторни маркери за хемолиза като завишена лактатдехидрогеназа (ЛДХ) и/или ретикулоцити, когато други по-вероятни причини за хемолиза са изключени [9]. Също пациенти с необясними тромбози или пациенти с тромбози на необичайни локализации (церебрални вени, дермални вени, спланхнкусосви съдове) особено при едновременни данни за хемолиза трябва да бъдат тествани за ПНХ. При пациенти с идиопатична дълбока венозна тромбоза ПНХ скрининг не е показан като част от първоначалното диагностично търсене. Съществено е да се има предвид, че изследване за ПНХ може да бъде информативно при синдроми на костно-мозъчна недостатъчност като наследствена или придобита апластична анемия (АА) и миелодиспластичен синдром, както и в диференциално-диагностичен план на необяснима цитопения [10]. Загубата на GPI-свързани протеини се установява чрез маркиране на клетките от периферна кръв с флуоресцеин-конюгиран проаеролизин вариант (FLAER), който се свързва с висока селективност към гликановия участък на GPI [11].

Въз основа на публикувани консенсусни насоки чрез ФЦМ се определя степента на дефицит на GPI-свързани протеини и размера на установения клон [12]. За диагностични цели се приема граничната стойност от над 0.01% от изследваните клетки, за да се дефинира наличието на ПНХ клон, свързан със заболяване [11].

Съгласно класификация, предложена от The International PNH Group (IPiG) пациентите с установен абнормен ПНХ клон биват категоризирани в три подтипа [13]:

1. **Класическа ПНХ:** пациенти с ПНХ, които имат клинични и лабораторни данни за вътресъдова хемолиза (ретикулоцитоза, завишени стойности на ЛДХ, индиректна хипербилрубинемия, субнормални нива на серумен хептоглобин), без субстрат на друго дефинирано по диагностични критерии костномозъчно нарушение. Костният мозък е с данни за еритроидна хиперплазия и нормална морфология, липсват рекурентни кариотипни отклонения.

2. **ПНХ в асоциация с друго първично костно-мозъчно нарушение/хемопатия:** пациентите в тази група са с клинични и лабораторни данни за хемолиза, но имат съпътстващо или анамнеза за дефинирано по диагностични критерии първично костно-мозъчно заболяване (АА, МДС). Чрез морфологични, имунологични и цитогенетични/молекулярно-генетични изследвания се определя миелопатията, в контекста на която е възникнал ПНХ клонът.

3. **Субклинична ПНХ:** пациенти с малка популация ПНХ клон и без клинични и лабораторни данни за хемолиза и/или тромбоза. Най-често ПНХ клонът е установен посредством високо-чувствителна ФЦМ при диагностично обследване по повод цитопении в насока вродени/придобити синдроми на костно-мозъчна недостатъчност.

Минималните диагностични критерии за поставяне на диагнозата ПНХ са: 1) флуцитометрия с цел идентифициране на ПНХ клон; 2) хемолитични параметри, костно-мозъчна морфология и цитогенетика за класифициране на пациента.

Конвенционалната терапия на ПНХ в страните без достъп до комплементни инхибитори включва заместителна терапия с кръвни биопродукти, антикоагулантна терапия. Парадигмата в лечението на ПНХ се променя с въвеждането на комплементна блокада посредством анти-C5 моноклонални антитела [14-15]. Чрез тях се блокира C5 фракцията на комплемента и се възпрепятства патогенетичният механизъм на комплемент-медиран клетъчен лизис. Комплементната блокада посредством анти-C5 антитела постига контрол на хемолизата, намалява честотата на тромботични усложнения, подобрява качеството на живот и удължава преживяемостта на пациентите с ПНХ [16-17]. Одобрените към момента комплементни инхибитори са анти-C5 антителата екулизумаб и равулизумаб и цикличният пептид C3 инхибитор – пегсетакоплан [18].

Епидемиологични данни

Въпреки, че ПНХ е заболяване, описано в глобален мащаб, липсват точни епидемиологични данни за заболяемост и болестност. По данни от доклад на Orphanet от 2022 г. за болестност от редки болести очакваната болестност от ПНХ в европейската популация е 2/100 000 [19]. В доклада не са посочени данни за заболяемост от ПНХ. Ретроспективно популационно-базирано проучване от Великобритания оценя очакваната заболяемост от ПНХ на 3.5 случая на 1 000 000 население годишно или приблизително 220 новодиагностицирани случая годишно, докато докладваната болестност се оценя на приблизително 3.81/100 000 или приблизително 2400 превалентни случая [20]. Друго ретроспективно проучване върху Medicare данни от САЩ за тригодишен период (2015 – 2018 г.) докладва заболяемост 5.7/1 000 000 пациенто-години или 257 нови случая годишно и болестност 12-13/1 000 000 пациенто-години [21]. Приблизително еднакво е засягането на двата пола [20-22]. Някои проучвания докладват медиана на възрастта при диагностициране около 50 год. и обхват 5 – 91 год., докато в други докладваната медиана на възрастта е около 30 год. и обхват 9 – 80 год. [20, 22-23].

Клинична картина, усложнения и прогноза

Клиничната картина е многообразна и симптомите варират от асимптоматични пациенти до много тежки форми. Началните проявите могат да включват хемолитична анемия, тромбози (преобладават венозните), панцитопения и в някои случаи костно-мозъчна аплазия. Други симптоми се проявяват в хода на заболяването: астеноадинамия, бледост, задух при физически усилия, потъмняване на урината през нощта и в сутрешните часове, иктер, гръдни и коремни болки, бъбречна недостатъчност, хепатомегалия, асцит, затруднения при гълтане, главоболие, инфекции (менингит, септицемия) и еректилна дисфункция. Описаните симптоми не е задължително да се проявяват едновременно и могат да се наблюдават поотделно [24].

Вътресъдовата хемολи́за е основният патогенетичен механизъм при ПНХ. Освобождаването на хемоглобин в циркулацията при разрушаване на еритроцитите вследствие комплемент-медирана атака води до изчерпване на ендотел-продуцирания азотен окис (NO), което предизвиква гладкомускулна дистония (спазми) и тромбоцитна активация. Хемоглобинурията е друга характерна проява, свързана с освобождаването на големи количества хемоглобин в циркулацията и надвишаване капацитета на хемоглобин-свързващите белтъци хаптоглобин и хемопексин. При 60-80% от хората отпадналост, главоболие и задух са основните симптоми [24].

Тромбози. Тромботичните усложнения са водеща причина за смърт при пациентите с ПНХ без анти-C5 терапия

и увеличават риска за смърт приблизително 15 пъти [25-26]. Клиничният спектър включва инсулти, инфаркти, тромбози на церебрални вени, Budd-Chiari синдром, спланхникусова тромбоза. Генезата на тромботичните усложнения е мултифакторна и е свързана със зависимости от хемолизата (изчерпване на NO, тромбоцитна активация, ендотелна дисфункция, секреция на прокоагулантни субстанции) и независими от хемолизата механизми (дефицит на фибринолитични фактори и инхибитори на прокоагулантни фактори, секреция на проинфламаторни цитокини) [25]. Комплементната блокада е най-ефективната стратегия за контрол на тромбозата при ПНХ, докато първичната антикоагулантна профилактика не е показала предимство в редуцията на тромботичните инциденти [25, 27]. Приложението на еculizumab е води около 85% редукция на тромботичните инциденти при пациенти с ПНХ спрямо плацебо [27]. В клиничните изпитвания 301 и 302, сравняващи ефективност и безопасност на ravulizumab спрямо еculizumab, честотата на тромбо-емболични (ТЕ) инциденти е била сходна за двете групи: двама пациенти на ravulizumab спрямо един на еculizumab в 301 и нито едно събитие в която и да е от двете групи в 302 [15, 28].

Хемолитична анемия. Анемията има като симптоматична проява изразена отпадналост, чувство на слабост, бледост, задух и сърцебиене. Тя също често е с мултифакторна генеза: комбинация от вътресъдова хемолита и костно-мозъчна недостатъчност. Вариабилна по тежест анемия се установява в над 95% от пациентите с ПНХ, а около 50-60% от пациентите са трансфузионно зависими при естествен ход на заболяването [26]. Въвеждането на C5 комплементната блокада категорично променя естествения ход на заболяването чрез постигане контрол на вътресъдовата хемолита и трансфузионна независимост. Около 50% от пациентите в TRIUMPH постигат трансфузионна независимост на фона на терапия с еculizumab спрямо 0% от пациентите в плацебо рамото, като този отговор се задържа дългосрочно в SHEPHERD [29-30]. Въпреки това, около 11-27% от пациентите на еculizumab имат пробивна хемолита [31]. Терапията с ravulizumab постига сравними нива на трансфузионна независимост спрямо еculizumab (73.6% vs. 66.1% в 301 и 87.6% vs 82.7% в 302) при много по-ниска честота на пробивна хемолита 4% в 301 и 0% в 302 спрямо 11% за еculizumab в 301 и 5% в 302 [15, 28].

Абдоминални болки, дисфагия (гладко-мускулна дистония). Абдоминалните болки са чест и интензивни. Независимо дали са постоянни или епизодични, те понякога могат да наложат хоспитализация [24]. Остро възникналата абдоминална болка в комбинация с хепатомегалия, асцит и иктер може да е проява на Budd-Chiari синдром. Намаленото кръвоснабдяване на червата вследствие анемичния синдром

и гладко-мускулните спазми също може да доведе до коремни болки, констипация, напрегнат корем и кръв в изхожданията. Дисфагията се изразява като затруднение при преглъщане, придружено от усещане за дискомфорт или блокаж по време на преминаване на храната през устата, фаринкса и хранопровода.

Хронична бъбречна недостатъчност. Пациентите с ПНХ имат около шест пъти по-висок риск за хронична бъбречна недостатъчност (ХБН) [32]. Около 65% от пациентите с ПНХ без провеждана специфична анти-С5 терапия имат данни за бъбречна увреда, дефинирана като недостатъчност 1-5 степен по критерии на Kidney Disease Outcomes Quality Initiative, а 21% имат ХБН 3-5 степен [32]. Хемоглобинурията може да предизвика остра бъбречна недостатъчност при масивна хемолиза поради отлагане на хемоглобинови преципитати в бъбречните тубули. Хронична тубулна увреда възниква и вследствие микросъдова тромбоза и отлагане на хемосидерин. Степента на бъбречна дисфункция може да наложи преминаване към хемодиализа или бъбречна трансплантация. Приблизително 1-2 на 100 пациенти с ПНХ са на хемодиализа, а честотата на ХБН при пациенти под 65 год. е около четири пъти по-висока спрямо общата популация [32]. В хода на лечение с eculizumab се наблюдава клинично значимо подобрение в 34% от пациентите с ХБН преди начало на терапията, а при 21% е налице нормализиране на бъбречната функция [32]. Честотата на значими бъбречно-свързани събития е била редуцирана с 50% по време на лечение с eculizumab спрямо честотата преди започване на специфичната терапия. Макар да липсват преки съобщения за ефекта на ravulizumab върху бъбречната функция при пациенти с ПНХ, лечението с ravulizumab при пациенти с атипичен хемолитикоуремичен е свързано с подобрение на гломерулната филтрация с една или повече степени при 68% от пациентите [33].

Пулмонална хипертония. Пулмоналната хипертония при ПНХ се явява следствие на хемолитичната анемия и изчерпване на NO, последващата ендотелна дисфункция, васкулопатия и микросъдово тромбозиране. Гръдната болка и задухът може да са прояви на пулмонална хипертония при пациенти с ПНХ. При около половината от пациентите с ПНХ преди започване на терапия с С5 инхибитор се наблюдават наднормени стойности на N-терминален про-В натрийуретичен пептид като маркер за пулмонална съдова резистентност и яснокамерна дисфункция [34-35].

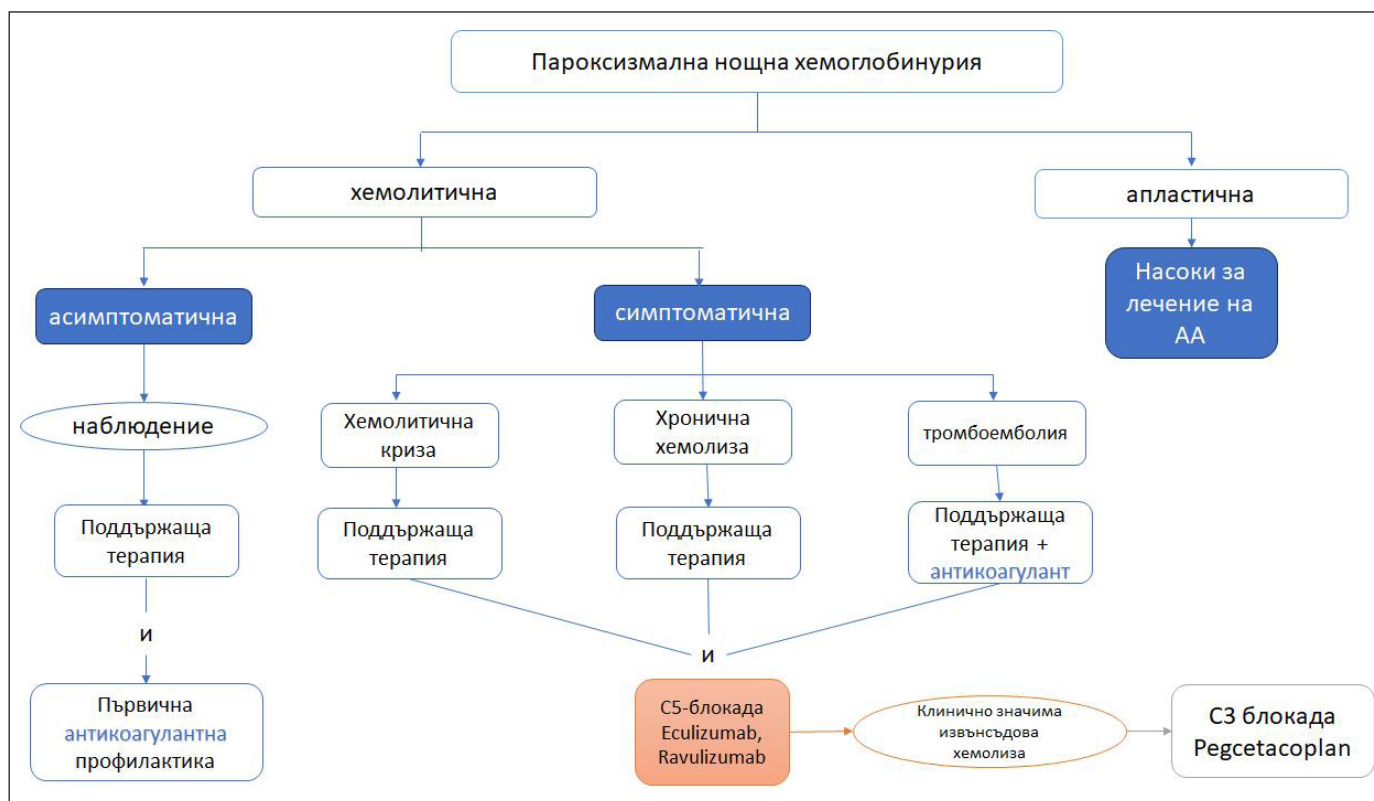
Специални ситуации: бременност. Бременността при пациентки с ПНХ е свързана с висока майчина и фетална смъртност, както и с повишен риск от атипични тромбози (11.6 vs. 7.2%) [36]. Докладвани са случаи на успешни бременности на фона на лечение с eculizumab без данни за асоциирана тератогенност [37]. При установена бременност

не бива да се прекъсва текущата терапия с eculizumab. При желание за забременяване трябва да се преценят рисковете и усложненията, свързани с приложение на eculizumab. Към момента липсват данни за приложението на ravulizumab и pegcetacoplan при бременни.

Терапевтични стандарти

Към момента не са публикувани обновени препоръки на International PNH Interest Group за лечение на ПНХ, но редица професионални дружества предоставят актуални насоки в лечението на ПНХ. Съгласно публикуван през 2021 г. експертен консенсусен документ от *Бразилското дружество по хематология, химиотерапия и клетъчна терапия (ABHN)* терапевтичните възможности при пациенти с ПНХ се състоят от поддържаща терапия, алогенна трансплантация на стволови клетки и анти-С5 комплементна блокада (eculizumab) в зависимост от тежестта на клиничната картина и размера на ПНХ клона [38]. На фиг. 1 е представена графично структурата на терапевтичния подход при ПНХ съгласно препоръките на *Германското дружество по хематология и медицинска онкология (DGHO)* (www.dhgo.de, www.onkopedia.com) [39].

В зависимост от преобладаващата компонента – хемолитична или апластична – се прилага различен подход. Ако водеща е апластичната компонента, т.е. ПНХ възниква на база на апластична анемия или хипоплазия с наличие на лимфоцитни инфилтрати, се прилагат насоки за лечение на апластична анемия. Ако е налице хемолиза и пациентът е асимптоматичен, се прилага наблюдателен подход, общо-поддържаща терапия и първична антикоагулантна профилактика. Ако пациентът е с клинично значими изяви на хемолиза, се прилага общо-поддържаща терапия заедно с С5 комплементна блокада. Когато е налице тромбоемболично усложнение, се добавя антикоагулант. Въпреки ефективната антикоагулация съществува повишен риск от рецидивиращи тромбози. Това определя тромбозата като индикация за комплемент-блокираща терапия. Имуносупресивна терапия е показана само в контекста на апластична анемия и не е показана за контрол на хемолизата. Единствената терапия с потенциал за излекуване е алогенната трансплантация на стволови клетки. Показание за трансплантация при ПНХ възниква при асоциация с апластична анемия, миелодиспластичен синдром, трансформация в остра левкемия. Процедурата е свързана с повишена асоциирана смъртност поради висок процент на отхвърляне на трансплантата, особено след стандартно кондициониране, инфекциозни усложнения и болест на присадката срещу приемателя (дългосрочна преживяемост около 50-60%). Сравнителен анализ на преживяемостта между нетрансплантирани и трансплантирани пациенти с ПНХ показва, че трансплантираните пациенти с ПНХ и тромбоза или рецидивиращи хемолитични кризи са със значимо



Фигура 1. Терапевтичен подход при ПНХ съгласно препоръки на DHGO

Таблица 1. Терапевтични модалности при ПНХ

Поддържаща терапия		
Общо-поддържаща	Антикоагулантна	Специфична
- Хемотрансфузии - Фолиева киселина (1-5 mg дневно) и вит. B12 при установен дефицит - Перорална феротерапия - Антибиотична терапия	- Кумаринови антикоагуланти - Хепарин - Директни орални антикоагуланти	- Терминална комплементна блокада с eculizumab / ravulizumab - Проксимална комплементна блокада – pegcetacoplan
Куративна терапия: Алогенна трансплантация на стволови клетки		

по-кратка преживяемост спрямо нетрансплантираните пациенти, които получават най-добра поддържаща терапия, включително eculizumab при индикации [40].

C5 комплементна блокада

Блокадата на комплементната каскада е към момента единствената патогенетично ориентирана терапия при ПНХ, която може да промени естествения ход на заболяването. Комплементната блокада посредством анти-C5 моноклонални антитела в крайните етапи на активация на комплемента е включена в националните препоръки за лечение на ПНХ на редица европейски държави: Австрия, Белгия, България, Великобритания, Германия, Дания, Испания, Турция, Чехия, Франция, Финландия, Швейцария,

Швеция (списъкът не е изключващ) [39, 41-51]. В България към момента липсват алтернативи на комплементна блокада, които се реимбурсират за ПНХ.

Хуманизираните моноклонални антитела eculizumab и ravulizumab се свързват с C5 фракцията на комплемента и предотвратяват нейната хидролиза до C5a и C5b като така възпрепятстват последващо формиране на мембрано-атакуващия комплекс (МАК). Ravulizumab е първият представител на втората генерация инхибитори на комплемента. Той е създаден чрез таргетно модифициране молекулата на eculizumab: 1) добавени са два хистидинови остатъка към региона, определящ комплементарността, за да се увеличи скоростта на дисоциация на комплекса C5 от

Седмица	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Екулизумаб	Индукционна фаза				Поддържаща фаза						
Доза, мг	600	600	600	600	900	X	900	X	900	X	900
Равулизумаб	Индукционна фаза		Поддържаща фаза								
Доза, мг	2700		3300	X	X	X	X	X	X	X	3300

Фигура 2. Терапевтична схема на лечението с еculizumab и ravulizumab

ravulizumab при pH 6; 2) чрез замяна на други две аминокиселини в Fc участъка се повишава афинитета към неонаталния Fc рецептор (FcRn), което позволява по-ефективно рециклиране на ravulizumab от ендозома към циркулацията. По този начин се постига клинично значимо удължаване на времето на полуживот от 11.3 дни за еculizumab до 49.7 дни за ravulizumab [52].

Лечението с еculizumab започва с индукционна фаза, по време на която се прилага еculizumab 600 mg ежеседмично за четири седмици. След това се преминава в поддържаща фаза, по време на която еculizumab се прилага по 900 mg на всеки две седмици. Еculizumab се прилага като интравенозна инфузия за 30 мин и последващо наблюдение на пациента от 60 мин. Терапията с ravulizumab започва с натоварваща доза в зависимост от телесното тегло на пациента: 2400 mg, $40 \leq \text{до} < 60 \text{ kg}$; 2700 mg, $60 \leq \text{до} < 100 \text{ kg}$; 3000 mg, $\geq 100 \text{ kg}$. Две седмици след натоварващата доза се преминава към поддържаща терапия в доза от 3000 mg, $40 \leq \text{до} < 60 \text{ kg}$; 3300 mg, $60 \leq \text{до} < 100 \text{ kg}$; 3600 mg, $\geq 100 \text{ kg}$, която се прилага на всеки 8 седмици. Прилага се като интравенозна инфузия в скорост и с продължителност в зависимост от прилаганата доза.

Рискове и проблеми при C5-комплементна блокада

Инфекции с капсулирани бактерии. Поради блокиране на терминалните фази на активация на комплемента съществува висок риск от инфекция с патогенни капсулирани бактерии (*Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Pneumococcus*) [53]. Поради това преди начало на терапия с анти-C5 моноклонално антитяло е високо препоръчително да се приложи тетравалентна ваксина, която да се повтаря на всеки три години. Съществуват различия в препоръките относно времевата рамка, в която е уместно да се приложи менингококова ваксина. Някои насоки препоръчват това да се случи две седмици преди първото приложение на инхибитор на комплементна (Франция) [46]. От друга страна, ваксинация непосредствено преди началото на комплемент-блокираща терапия може да доведе до активация на комплементната каскада и провокиране на хемолитична криза, както и потенциално тромбообразуване. За да се избегне нежелана

активация на комплемента, DGHO препоръчва две седмици преди начало на анти-комплементна терапия с C5 инхибитор да се проведе преимптивна антибиотична профилактика, а имунизация срещу най-честите щамове капсулирани патогени да се извърши след постигане на ефективна блокада на комплемента [39]. Препоръчително е след всяко поставяне на ваксина да се проследят биохимичните маркери за хемолиза за период от две седмици. При клинично съмнение за менингококова инфекция (температура, главоболие, съпроводено с гадене и/или повръщане, кожен обрив, вратна ригидност, обърканост) е необходимо доуточняване в спешен порядък и включване на терапия с ципрофлоксацин или амоксицилин/клавуланова киселина [39].

Пробивна хемолиза. Клинично значимата пробивна хемолиза се характеризира с нарастване на ЛДХ и клинични прояви на хемолиза на фона на анти-C5 терапия с еculizumab. Тя може да бъде обусловена от субдозирание (фармакокинетични фактори). При данни за пробивна хемолиза временно трябва да се приложи допълнителна доза на еculizumab. В дългосрочен план овладяването на пробивната хемолиза се постига чрез скъсяване на обичайния интервал от 14 на 12 дни или увеличаване на поддържащата доза на еculizumab на 1200 mg на всеки 14 ± 2 дни [39]. Проведените клинични изпитвания демонстрират по-добра фармакокинетика на ravulizumab и значимо по-малък брой епизоди на пробивна хемолиза. Поради тази причина е удачно превключване на пациенти, лекувани с еculizumab, на терапия с ravulizumab. Пробивна хемолиза може да настъпи и при поява на комплемент-активирани фактори, напр. инфекция, бременност, операция (фармакодинамични фактори). Поради тази причина елективни операции трябва да бъдат планивани непосредствено след приложение на последната доза анти-C5 антитяло. При клинично значима пробивна хемолиза е необходимо да се изключат инфекции като потенциално провокиращи фактори.

Употреба на инхибитори на C3 фракция на комплемента

При около 60% от пациентите, получаващи C5 комплементна блокада, е налице персистираща анемия [51]. При част от тези пациенти е налице съпътстваща костно-мозъчна недостатъчност. Съответно колкото е по-изразена,

толкова вероятността терапията с комплементна блокада да доведе до подобрение на анемията е по-малка. При немалка част от пациентите основен фактор за персистиращата анемия е компенсаторната извънсъдова хемолiza [54-55]. Тъй като компонентите от началните етапи на комплементната каскада не биват блокирани от C5 инхибиторите, по повърхността на еритроцитите се отлагат C3d и C3c продукти от разграждането на C3 фракцията [51]. C3 опсонизирани еритроцити биват секвестрирани в ретикулоендотелната система от макрофаги, експресиращи съответните C3 рецептори, по тип на екстравазална хемолiza. Критериите за извънсъдова хемолiza на фона на активна комплементна блокада включват: ретикулоцитоза ($> 100 \text{ G/l}$), лекостепенно завишена ЛДХ (ГРГ до $\leq 1.5 \times$ ГРГ), индиректна хипербилирубинемия [51]. Към момента са разработени няколко инхибитора на C3 и на неговите пътища на амплификация. Pegcetacoplan е директен инхибитор на C3 и C3b, които заедно с фрагмент Bb и пропердин формират C5 конвертазата по алтернативния път. Във фаза 3 изпитване pegcetacoplan демонстрира значимо подобрение на анемията, трансфузионната зависимост и качеството на живот при пациенти, които на фона на терапия с eculizumab не са постигнали увеличение на Hgb $\geq 105 \text{ g/l}$ (54,55). Pegcetacoplan е одобрен от EMA за пациенти, които след поне тримесечна терапия с C5 комплементен инхибитор демонстрират симптоматична анемия въз основа на екстравакуларна хемолiza.

Оценка на отговора към провежданата терапия

Поради своя механизъм на действие eculizumab и ravulizumab могат да повлияят само вътресъдовата хемолiza. Извънсъдовата хемолiza не се повлиява и до голяма степен определя клиничния отговор към прилаганата терапия.

Таблица 2. Критерии за оценка на отговора при комплементна блокада при ПНХ

Отговор	Трансфузионни нужди	Хемоглобин	ЛДХ*†	Ретикулоцити*
Пълен отговор	Няма	$\geq 120 \text{ g/l}$	$\leq 1.5 \times$ ГРГ	$u \leq 150/\text{nl}$
Много добър отговор	Няма	$\geq 120 \text{ g/l}$	$>1.5 \times$ ГРГ	или $>150/\text{nl}$
Добър отговор	Няма	$\geq 100 \text{ g/l} - \leq 120 \text{ g/l}$	$\leq 1.5 \times$ ГРГ $>1.5 \times$ ГРГ	Изключване на апластична анемия и други синдроми на костно-мозъчна недостатъчност.
Частичен отговор	Няма или ≤ 2 ЕК на 6 мес	$\geq 80 \text{ g/l} - \leq 100 \text{ g/l}$		
Минимален отговор	Няма или ≤ 2 ЕК на 6 мес	$< 80 \text{ g/l}$		
	Редовни (3-4 ЕК за 6 мес) Редукция с $\geq 50\%$ спрямо изходни нужди	$< 100 \text{ g/l}$ $< 100 \text{ g/l}$		
Липса на отговор	>6 ЕК за 6 мес	$< 100 \text{ g/l}$		

ЕК – еритроцитен концентрат, ЛДХ – лактат дехидрогеназа, ГРГ – горна референтна граница; *Категориите за отговор се определят основно според необходимостта от хемотрансфузии и ниво на хемоглобин, но ЛДХ и ретикулоцитен брой служат като допълнителни индикатори за разграничаване между пълен и много добър отговор, както и за отделни подкатегории на отговор. † А. и В. посочват подкатегории съответно с или без остатъчна хемолитична активност.

European Bone Marrow Transplantation (EBMT) и DHGO предлагат критерии за оценка на отговора при комплементна блокада при ПНХ [39, 51]:

На табл. 3 са обобщени индикациите за започване на комплементна инхибиция с анти-C5 моноклонално антитяло съгласно препоръките на различни научни дружества и/или изследователски групи. Съобразно тези индикации може да се дефинира популацията, при която терминална комплементна блокада е показана, а именно пациенти с хемолитична активност на заболяването и изява на симптоми. В три от препоръките (ABNH, Finnish PNH Group, BHS) хемолитичната активност е вхожен критерий и е необходимо наличието на поне един клинично-дефиниран симптом за възникване на показание за лечение с анти-C5 антитяло [38, 41, 48]. В почти всички препоръки (PESG, DHGO, SENH, DHS, ČHS, Finnish PNH Group, BHS) трансфузионната зависимост е независима индикация за лечение [39, 41-42, 44-45, 48-49]. Клинично-дефинираните прояви, свързани с биологична активност като тромбоза, бъбречна дисфункция, белодробна хипертония, гладкомускулна дистония пациенти с ПНХ са независимо показание за лечение в четири от препоръките, а SENH и Finnish PNH Group предлагат конкретни критерии за дефиниране на бъбречна дисфункция и пулмонална хипертония. Бременността при пациентки с ПНХ се възприема като индикация за започване на лечение от почти всички групи поради високия риск от тромбози, майчина и фетална смъртност.

ABNH и Finnish PNH Group определят кои пациенти, не са показани за лечение с анти-C5 антитяло: леки или умерени симптоми, свързани с хемолiza; малък гранулоцитен клон ($<30\%$) без данни за хемолiza и с нормални стойности на периферната кръвна картина, пациенти с АА или MDS с ПНХ

клон без подлежаща хемолiza или тромбоза (ABNH); малък PNH < 10 %, съобразно клиничната преценка при тромбоцити под 30 G/l и неутрофили под 0.5 G/l, ЛДХ < 1.5 пъти горен референтен интервал, нелекувана Neisseria meningitidis или друга бактериална инфекция, дефицит на комплемента, състояние след стволовоклетъчна трансплантация,

свърхчувствителност, слаб комплайанс на пациента.

Заклучение

ПНХ е рядко заболяване със сериозни увреждащи ефекти върху пациентите. Лечението с инхибитори на комплемента променя естествения ход на ПНХ и

Таблица 3. Показания за започване лечение с анти-C5 инхибитор съгласно препоръки на професионални гуржества

Индикации	ABNH	PESG	DHGO	SENH	DHS	ČHS	Finnish PNH Group	BHS	SFH
Размер на ПНХ клон				> 10%			≥10%	>50% гранулоцити >10% еритроцити	Всички пациенти, при които се обмисля терапия с комплементен инхибитор трябва да бъдат обсъдени с шведската PNH група относно възможността за лечение в рамките на клинично изпитване. Индикация за лечение извън клинично изпитване е „ПНХ в такава тежест, че заболяването би довело до бързо влошаване на пациента за много кратко време.
Трансфузионна зависимост, несвързана с костно-мозъчна недостатъчност		✓	✓	✓	✓	✓	Необходимост от > 6-8 еритроцитни концентрата за 1 год + хемолитична активност	Трансфузия на поне 4 еритроцитни концентрата за последните 2 год. (условие за реимбурсиране)	
Хемолiza	LDH ≥ 1.5 пъти над горен референтен интервал	✓		LDH ≥ 1.5 пъти над горен референтен интервал + симптоми		Тежка хемолiza, >30% CD59 (-) еритроцити или Рецидивираща хемолiza, <30% CD59 (-) еритроцити	Активна хемолiza	Повишена LDH + ретикулоци	
	и кое да е от следните:						и кое да е от следните:	и кое да е от следните:	
Тромбоза, свързана с ПНХ	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	
Бъбречна дисфункция	✓	✓	✓	✓ ХБН или повтарящи епизоди на БН	✓		✓ eGFR <60 ml/min	✓	
Пулмонална хипертония	✓	✓		✓ с NYHA class III или IV	✓		✓ или белодробна недостатъчност поради тромбоза или хемолiza: NYHA class III	✓	
Гладкомускулна дистония	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	
Hgb <70 g/l	✓ или Hgb <100 g/l при две независими измервания и сърдечни прояви						✓ или Hgb <100 g/l и симптоми		
Бременност	✓	✓	✓*	✓			✓ + до 3 мес. след раждането	✓ + до 3 мес. след раждането	✓* + до 2 мес. след раждането
ABNH - Бразилско дружество по хематология, химиотерапия и клетъчна терапия; DHGO - Германско дружество по хематология и медицинска онкология; PESG – PNH study group; SENH – Испанско дружество по хематология и химиотерапия; ČHS – Чешко дружество по хематология; DHS – Датско дружество по хематология; BHS – Белгийско дружество по хематология; SFH – Шведско дружество по хематология; *само за Eculizumab									

съществено подобрява перспективата при тези пациенти. Достъпът до комплементни инхибитори, обаче, е ограничен в редица гържави поради изключително високата цена на лечение. Ясното определяне на индикации за лечение и критерии за оценка на отговора, за да се дефинира целева популация с очаквана полза от приложение на тази нова група медикаменти, е необходима предпоставка към целесъобразното им приложение в контекста на управление на здравните ресурси. В глобален мащаб са необходими национални и наднационални инициативи за подобряване на достъпа до лекарства сираци.

Библиография

1. Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2014 Oct 30;124(18):2804–11.
2. 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 May 21;73(4):703–11.
3. Bessler M, Mason PJ, Hillmen P, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is caused by somatic mutations in the PIG-A gene. *EMBO J*. 1994 Jan 1;13(1):110–7.
4. 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 Feb 26;259(5099):1318–20.
5. Kinoshita T, Inoue N, Takeda J. Defective Glycosyl Phosphatidylinositol Anchor Synthesis and Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. In: Dixon FJ, editor. *Advances in Immunology* [Internet]. Academic Press; 1995 [cited 2023 Jul 20]. p. 57–103. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065277608605842>
6. Rollins SA, Sims PJ. The complement-inhibitory activity of CD59 resides in its capacity to block incorporation of C9 into membrane C5b-9. *The Journal of Immunology*. 1990 May 1;144(9):3478–83.
7. Lublin DM, Atkinson JP. Decay-Accelerating Factor: Biochemistry, Molecular Biology, and Function. *Annual Review of Immunology*. 1989;7(1):35–58.
8. 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: Clinical Cytometry*. 2010;78B(4):211–30.
9. Dezeren 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 Part B: Clinical Cytometry*. 2018;94(1):16–22.
10. Brodsky RA. How I treat paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2009 Jun 25;113(26):6522–7.
11. Brodsky RA, Mukhina GL, Li S, et al. Improved detection and characterization of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria using fluorescent aerolysin. *Am J Clin Pathol*. 2000 Sep;114(3):459–66.
12. Sutherland DR, Keeney M, Illingworth A. Practical guidelines for the high-sensitivity detection and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones by flow cytometry. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*. 2012;82B(4):195–208.
13. Parker C, Omine M, Richards S, et al. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2005 Dec 1;106(12):3699–709.
14. Morgan BP, Harris CL. Complement, a target for therapy in inflammatory and degenerative diseases. *Nat Rev Drug Discov*. 2015 Dec;14(12):857–77.
15. Lee JW, Sicre de Fontbrune F, Wong Lee L, et al. Ravulizumab (ALXN1210) vs eculizumab in adult patients with PNH naive to complement inhibitors: the 301 study. *Blood*. 2019 Feb 7;133(6):530–539.
16. Hillmen P, Muus P, Röth A, et al. Long-term safety and efficacy of sustained eculizumab treatment in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Br J Haematol*. 2013 Jul;162(1):62–73.
17. Terriou L, Patriquin CJ, Griffin M, et al. Long-Term Survival Benefit of Eculizumab Treatment in Patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: Data from the International PNH Registry. *Blood*. 2021 Nov 5;138(Supplement 1):2188.
18. Mullard A. First approval of a complement C3 inhibitor opens up autoimmune and inflammatory opportunities. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2021 May 26;20(7):496–496.
19. Prevalence of rare diseases: Bibliographic data, Orphanet Report Series, Rare Diseases collection, Janvier 2022, Number 1: Diseases listed in alphabetical order [Internet]. Available from: http://www.orpha.net/orphacom/cahiers/docs/GB/Prevalence_of_rare_diseases_by_alphabetical_list.pdf
20. Richards SJ, Painter D, Dickinson AJ, et al. The incidence and prevalence of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and aplastic anaemia PNH syndrome: A retrospective analysis of the UK's population-based haematological malignancy research network 2004-2018. *Eur J Haematol*. 2021 Aug;107(2):211–8.
21. Jalbert JJ, Chaudhari U, Zhang H, et al. Epidemiology of PNH and Real-World Treatment Patterns Following an Incident PNH Diagnosis in the US. *Blood*. 2019 Nov 13;134:3407.
22. Goren Sahin D, Akay OM, Keklik M, et al. Clinical characteristics and therapeutic outcomes of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria patients in Turkey: a multicenter experience. *Ann Hematol*. 2021 Jul;100(7):1667–75.
23. Du Y, Yang Y, Yang C, et al. Clinical characteristics of 512 eculizumab-naïve paroxysmal nocturnal hemoglobinuria patients in China: a single-center observational study. *Hematology*. 2022 Dec;27(1):113–21.
24. Peffault De La Tour R, Sicre de Fontbrune F, Socié G. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Orphanet encyclopedia for professionals*. [Internet]. Orphanet; 2017. Available from: https://www.orpha.net/consor/www/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=FR&Expert=447
25. Hill A, Kelly RJ, Hillmen P. Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2013 Jun 20;121(25):4985–96; quiz 5105.
26. de Latour RP, Mary JY, Salanoubat C, et al.; French Society of Hematology; French Association of Young Hematologists. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: natural history of disease subcategories. *Blood*. 2008 Oct 15;112(8):3099–106.
27. Hillmen P, Muus P, Dührsen U, et al. Effect of the complement inhibitor eculizumab on thromboembolism in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2007 Dec 1;110(12):4123–8.
28. 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 Feb 7;133(6):540–9.
29. 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 Feb 15;111(4):1840–7.
30. Hillmen P, Young NS, Schubert J, et al. The Complement Inhibitor Eculizumab in Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *N Engl J Med*. 2006 Sep 21;355(12):1233–43.
31. 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 Jan 1;106(1):230–7.
32. 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 Aug;85(8):553–9.
33. Rondeau E, Scully M, Ariceta G, et al. The long-acting C5 inhibitor, Ravulizumab, is effective and safe in adult patients with atypical hemolytic uremic syndrome naïve to complement inhibitor treatment. *Kidney International*. 2020 Jun 1;97(6):1287–96.
34. 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 May;149(3):414–25.
35. 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 Aug;158(3):409–14.
36. Fieni S, Bonfanti L, Gramellini D, et al. Clinical management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in pregnancy: a case report and updated review. *Obstet Gynecol Surv*. 2006 Sep;61(9):593–601.
37. Kelly R, Arnold L, Richards S, et al. The management of pregnancy in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria on long term eculizumab. *British Journal of Haematology*. 2010;149(3):446–50.
38. Cançado RD, Araújo A da S, Sandes AF, et al. Consensus statement for diagnosis and treatment of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Hematol Transfus Cell Ther*. 2021;43(3):341–8.
39. Onkopedia [Internet]. [cited 2023 Jul 24]. Paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie (PNH). Available from: <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/paroxysmale-naechttliche-haemoglobinurie-pnh>
40. Peffault de Latour R, Schrezenmeier H, Bacigalupo A, et al. Allogeneic stem cell transplantation in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Haematologica*. 2012 Nov;97(11):1666–73.
41. Devos T, Meers S, Boeckx N, et al. Diagnosis and management of PNH: Review and recommendations from a Belgian expert panel. *European Journal of Haematology*. 2018;101(6):737–49.
42. The Red Book. Treatment and procedures in hematology 2023. Chapter 23. [Internet]. 2023. Available from: <https://www.hematology.cz/cervena-kniha-lecebne-postupy-v-hematologii/>
43. Killick SB, Bown N, Cavenagh J, et al. Guidelines for the diagnosis and management of adult aplastic anaemia. *British Journal of Haematology*. 2016;172(2):187–207.
44. Sahin F, Akay OM, Ayer M, et al. Pesg PNH diagnosis, follow-up and treatment guidelines. *Am J Blood Res*. 2016;6(2):19–27.
45. Villegas A, Arrizabalaga B, Bonanad S, et al. [Spanish consensus statement for diagnosis and treatment of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria]. *Med Clin (Barc)*. 2016 Mar 18;146(6):278.e1-7.
46. Protocole national de diagnostic et de soins (PNDS) APLASIES MEDULLAIRES ACQUISES ET CONSTITUTIONNELLES [Internet]. 2023. Available from: <https://hpnfrance.com/2023/05/31/mai-2023-mise-a-jour-du-pnds/>
47. Johansson, Alsenhed J, Arvanitakis A, et al. Paroxysmal nokturn hemoglobinuri (PNH). Nationella rekommendationer för diagnostik, behandling och uppföljning. 2021.
48. Armstrong E, Jarva H, Korkama ES, et al. National recommendation: a statement prepared by hematology specialists (the PNH group) on the diagnosis, treatment and follow-up of PNH in Finland [Internet]. Suomen Hematologiyhdistys (Finnish Association of Hematology); 2022. Available from: <https://hematology.fi/hoito-ohjeet/hoito-ohje-1/pnh/>
49. Dansk guidelines for behandling af patienter med paroxystisk nokturn hæmoglobinuria. [Internet]. Dansk Haematologisk Selskab (Danish Society of Hematology); 2013. Available from: <https://hematology.dk/index.php/vejledninger/kliniske/2012-11-06-06-19-26>
50. Bodó I, Amine I, Boban A, et al. Complement Inhibition in Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH): A Systematic Review and Expert Opinion from Central Europe on Special Patient Populations. *Adv Ther*. 2023 Jun;40(6):2752–72.
51. 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.
52. Lee JW, Kulasekararaj AG. Ravulizumab for the treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2020 Mar 3;20(3):227–37.
53. Bozio CH, Isenhour C, McNamara LA. Characteristics of and meningococcal disease prevention strategies for commercially insured persons receiving eculizumab in the United States. *PLoS One*. 2020;15(11):e0241989.
54. Hillmen P, Szer J, Weitz I, et al. Pegcetacoplan versus Eculizumab in Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *N Engl J Med*. 2021 Mar 18;384(11):1028–37.
55. de Castro C, Grossi F, Weitz IC, et al. C3 inhibition with pegcetacoplan in subjects with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria treated with eculizumab. *American Journal of Hematology*. 2020;95(11):1334–43.