

Erasmus MC
University Medical Center Rotterdam



PAROXYSMALE NACHTELIJKE HEMOGLOBINURIE

Henk Wind

Afdeling Immunologie

Erasmus MC

Woerden 30-10-2008

INTRODUCTIE

- § PNH is het gevolg van een klonale expansie van een gemuteerde hematopoëtische stamcel.
- § Klinisch manifesteert de ziekte zich met tekenen van intravasculaire hemolyse, veneuze trombose en cytopenie.
- § Incidentie: 2-6 per miljoen mensen, gemiddelde leeftijd 35 jaar en komt bij beide geslachten even vaak voor.

HISTORIE

- § Eerste patient beschreven door Strubing in 1882.
- § De naam PNH werd in 1925 geïntroduceerd door Enneking.
- § Thomas Ham ontdekte in 1937 dat PNH erythrocyten lyseerden in aangezuurd serum. Hieruit ontstond de diagnostische 'acid Ham' test.
- § In 1954 werd bewezen dat verhoogde gevoeligheid voor complement de hemolyse veroorzaakt.
- § In de jaren 80 ontdekte men het ontbreken van ewitten die met een zogenaamd GPI-anker aan de celmembraan gebonden zijn.
- § Enkele jaren later werden mutaties in het PIG-A gen ontdekt.

KLINISCHE MANIFESTIE

§ **HEMOLYSE:** Complement regulerende eiwitten CD55 en CD59 ontbreken op de rode bloedcellen.

Ernst afhankelijk van de grootte van de kloon en de mate van abnormaliteit (type II of III) en complementactivatie.

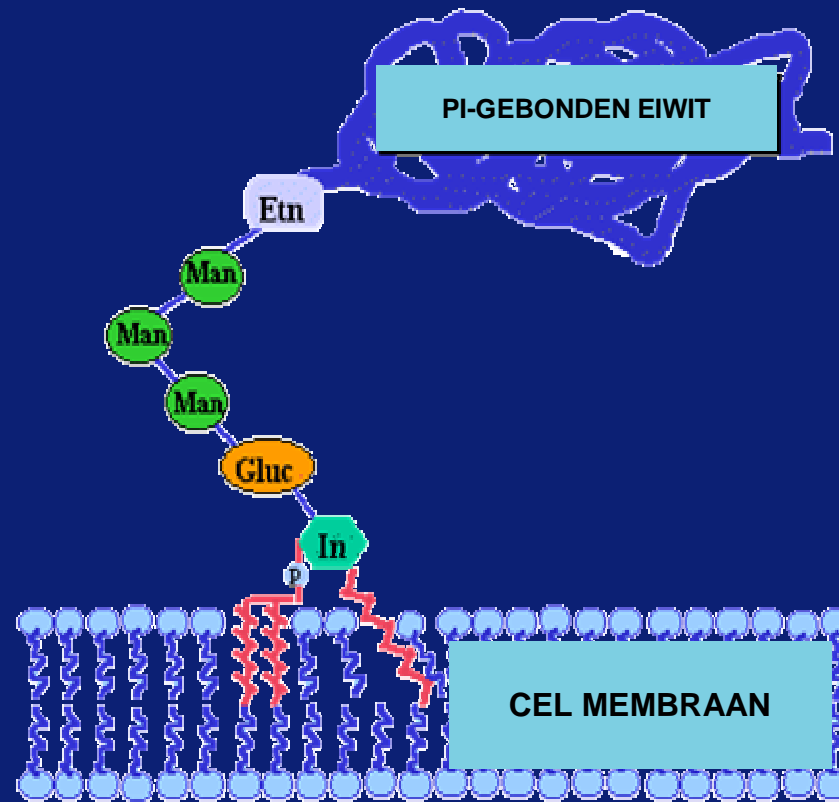


KLINISCH MANIFESTATIE

- § **CYTOPENIE:** Subklinisch tot een ernstige aplastisch anemie (AA). Omgekeerd komt het ook voor dat AA patienten een PNH beeld ontwikkelen.
- § **VEUZE TROMBOSE:** Complementactivatie op de trombocyten leidt tot verstoring van het fibrinolytisch systeem. Trombose treedt vaak op in lever (Budd-Chiari syndroom), buik- en hersenvaten.

MECHANISME

§ De bij PNH ontbrekende eiwitten zijn zogenaamde GPI-verankerde eiwitten.



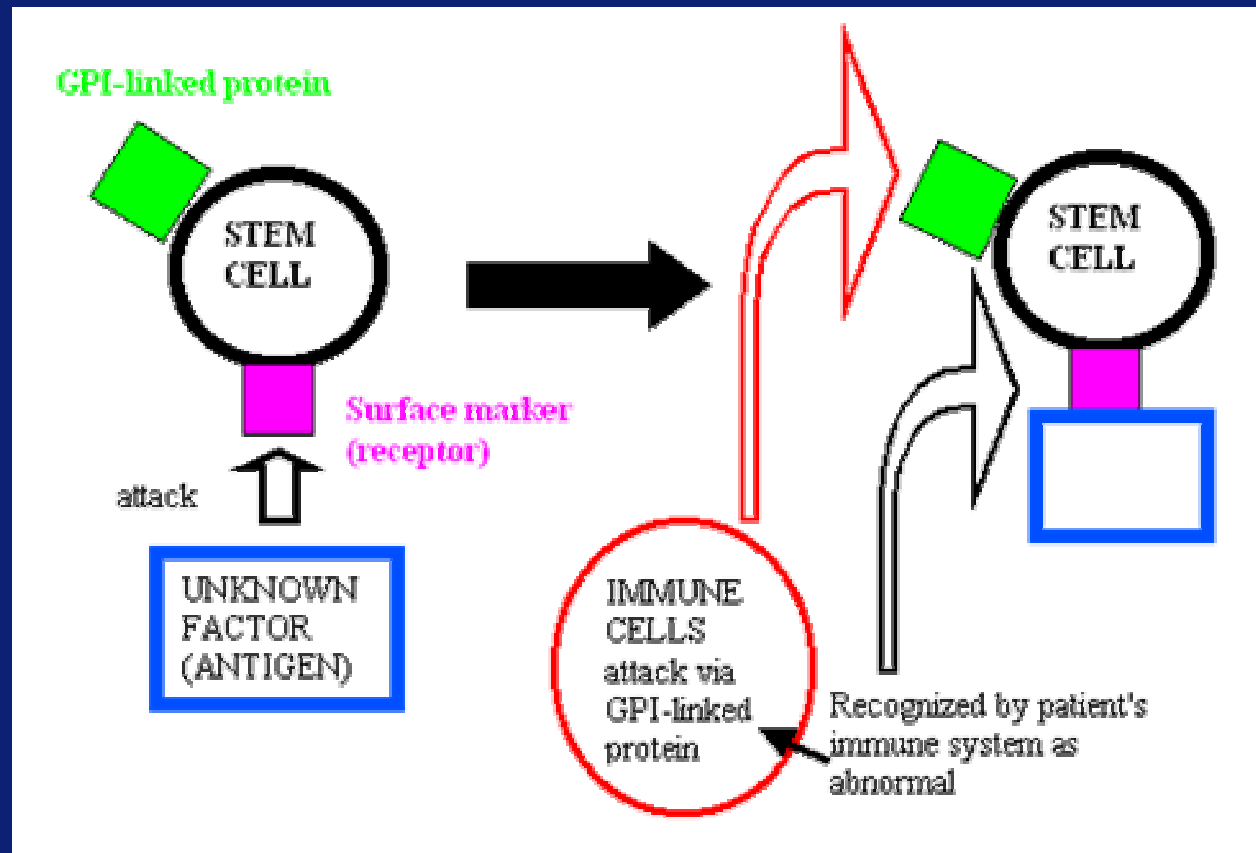
MECHANISME

- § De mutaties zijn divers en leiden tot gehele of gedeeltelijke afwezigheid van GPI-verankerde eiwitten. Meerdere klonen kunnen dus voorkomen.
- § PIG-A mutaties en GPI-deficiënte cellen worden ook gevonden bij 'gezonde' individuen.

De mutatie is nodig maar niet voldoende om het ziektebeeld te ontwikkelen!!

MECHANISME

Klonale selectie: Immuunselectie vindt plaats via GPI-verankerde eiwitten.



MECHANISME

Klonale expansie: wat bepaalt het groeivoordeel van de kloon? Niet alle klonen expanderen!

- § ongevoeligheid voor apoptose
- § ontstaan van additionele mutaties
- § ?

Het mechanisme van klonale selectie en expansie wordt nog onvoldoende begrepen.

DETECTIE VAN PNH KLONEN

Flowcytometrie wordt gezien als de standaard methode voor diagnose en follow-up bij PNH.

CRITERIUM: Gebruik tenminste 2 verschillende antistoffen gericht tegen 2 verschillende PI gebonden antigenen op 2 verschillende lijnen.

Welke celpopulaties zijn geschikt?

DETECTIE VAN PNH KLONEN

- § **Erythrocyten:** Door episodes van hemolyse en transfusies geven zij geen representatief beeld. Wel geschikt voor vervolgen therapie response.
- § **Granulocyten en monocyten:** Deze geven door korte levensduur en dus dagelijkse afgifte aan de circulatie een goede correlatie met de stamcel bevindingen.
- § **Lymfocyten:** Te lange levensduur voor correct beeld. Aantal aangedane T cellen geeft wel weer hoe lang de ziekte al bestaat.

DETECTIE VAN PNH KLONEN

- § FLAER: geconjugeerde (ALEXA 488), gemuteerde, niet lyserende vorm van het bacterieel product proaerolysine.
- § FLAER bindt aan het glycaan gedeelte van het GPI-anker.
- § FLAER kan gebruikt worden in combinatie met monoklonale antistoffen waardoor gevoeligheden van <0.1% gehaald kunnen worden.

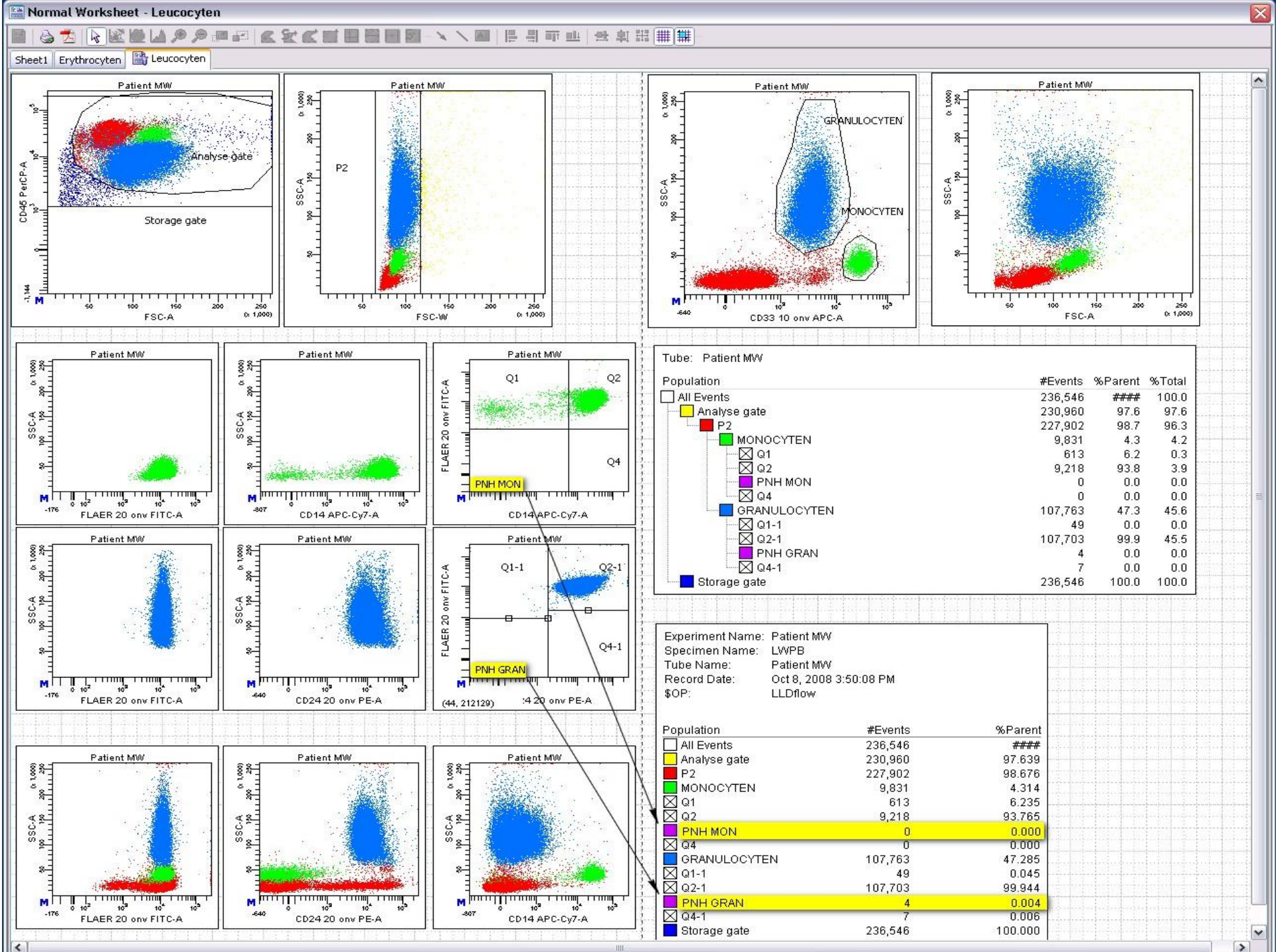
CLASSIFICATIE VAN PNH

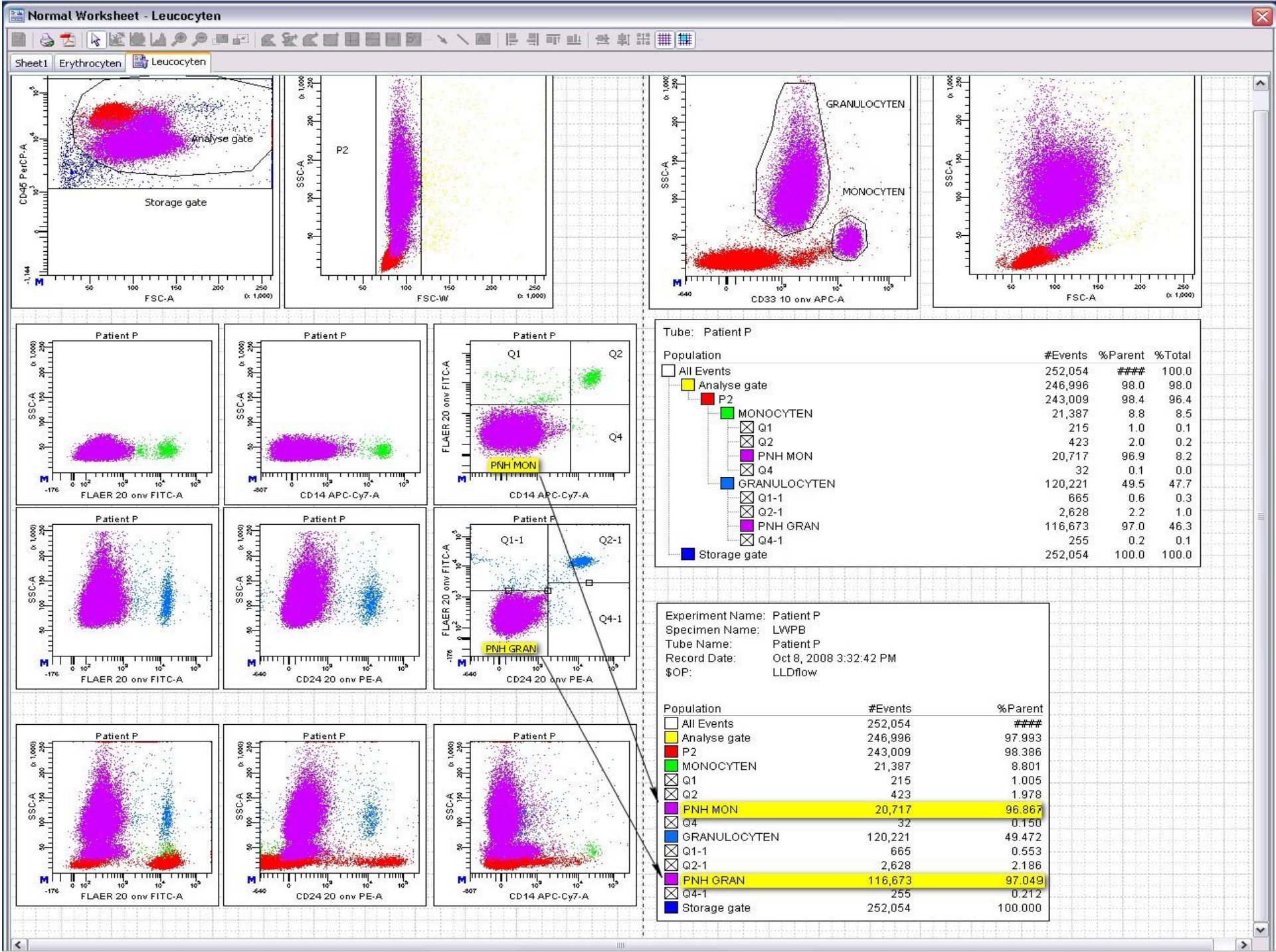
- § **Klassieke PNH:** duidelijke symptomen van intravasculaire hemolyse, verhoogd aantal reticulocyten, verhoogd LDH, grote PNH klonen en normo- tot hypercellulair beenmerg.

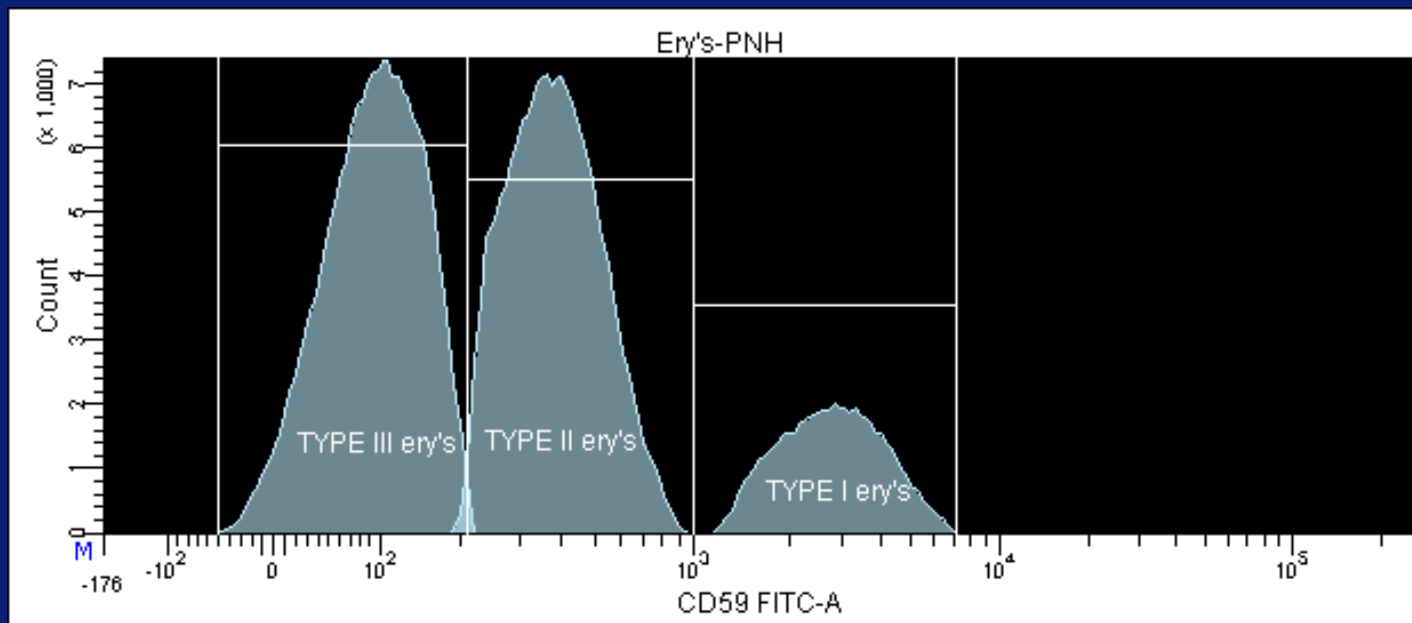
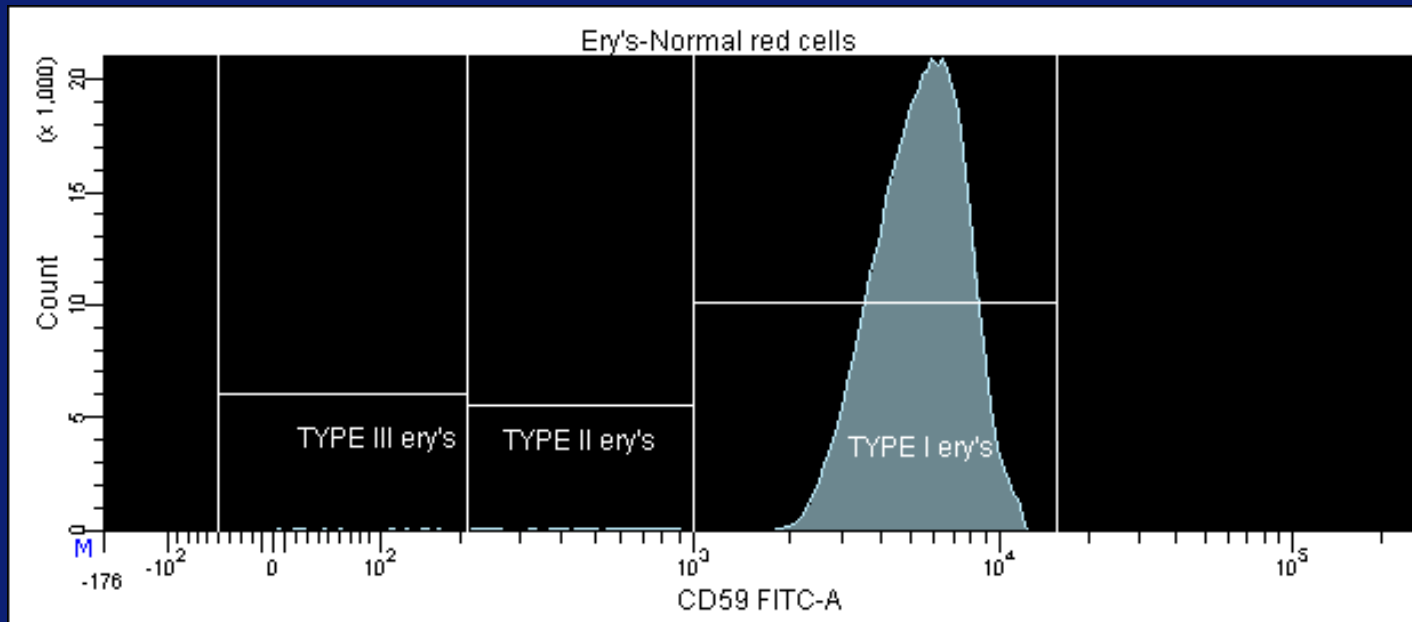
- § **PNH/AA of PNH/RA-MDS:** hypocellulair beenmerg, meestal geen symptomen van hemolyse, laag aantal reticulocyten, normaal LDH en kleine PNH klonen.

BEHANDELING VAN PNH

- § Beenmergtransplantatie is de enige genezende therapie.
- § Verdere behandeling is gericht op verlichten van de symptomen of het voorkomen van complicaties.
- § Behandeling met complementremmer eculizumab zorgt voor verminderde hemolyse en dus transfusiebehoefte, minder kans op trombose en verbeterde kwaliteit van leven.







PNH RONDZENDING



Sectie ICD

- § **Start:** 2009
- § **Opzet:** 3x per jaar (maart, mei en september) 1ml vers (ongestabiliseerd) bloed. Aankondiging per e-mail.
- § **Protocol:** eigen diagnostisch panel. (Nog) geen verplichting van markers zoals CD55 en CD59.
- § **Rapportage:** per e-mail aan coördinator. Rapporteer % GPI negatieve cellen binnen granulocyten, monocyten en (indien ingezet) erythrocyten op uitslagformulier. Ook dot-plots meesturen.
- § **Nabespreking:** najaarsvergadering SKML sectie ICD.
- § **Kosten:** €179,00 excl. BTW (op basis van 20 deelnemers; herberekening na pilot fase)
- § **Verzendadres:** CLB, Sanquin; UMC St. Radboud.
- § **Verzending:** via TNT (NL) en Resulta (B).