

Beatrice Drexler¹

Paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie – das Chamäleon der Hämatologie

Die paroxysmal nächtliche Hämoglobinurie (PNH) ist eine seltene «benigne» hämatologische Erkrankung, deren Diagnostik und Therapie sich in den letzten Jahren rasant entwickelt hat (1). Auch wenn der Erkrankungsname suggeriert, es würde sich alleine um eine anfallsartige (paroxysmal) nächtliche Ausscheidung von Hämoglobin mit dem Urin (Hämoglobinurie) handeln, so sind die klinischen Manifestationen tatsächlich sehr vielfältig (2) (Abbildung 1) und dementsprechend die Indikationen zur weiterführenden diagnostischen Abklärung breit.

Epidemiologie

Gesamthaft ist die Erkrankung sehr selten. Die Inzidenz der PNH beträgt ca. 1–1,5/10⁶/Jahr (3), wobei für die Schweiz keine genauen epidemiologischen Daten vorliegen und möglicherweise die Erkrankung aufgrund ihrer variablen Erscheinung noch immer unterdiagnostiziert ist. Nur selten tritt PNH im Kindesalter auf, stattdessen erfolgt die Diagnose gemäss Registerdaten meist im Erwachsenenalter (ca. 30 Jahre) und geringfügig häufiger bei Frauen (4).

Pathogenese

Es handelt sich um eine erworbene Erkrankung, die durch eine somatische Mutation im PIGA-Gen auf der Ebene der pluripotenten hämatopoietischen Stammzelle des Knochenmarks ausgelöst ist (5). PIGA, ein Gen auf dem

Die relevanteste Komplikation der Erkrankung sind thromboembolische Ereignisse, die primär die erhöhte Mortalität und Morbidität erklären.

X-Chromosom, ist für die Expression des Glycosylphosphatidylinositol(GPI)-Ankers verantwortlich, der wiederum für die Verankerung von Membranproteinen (z.B. CD14) wesentlich ist. Durch Mutation des PIGA-Gens kommt es zum Verlust dieser GPI-verankerten Proteine (GPI-Defizienz) auf einen signifikanten

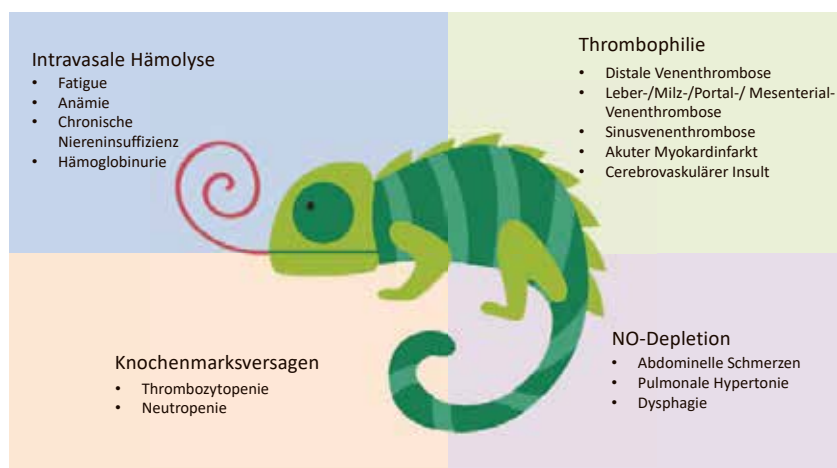


Abbildung 1: Mannigfaltige Beschwerden der PNH(4)

Anteil peripherer Blutzellen, wodurch es unter anderem zu einem Fehlen der sogenannten komplementinaktivierenden Proteine (CD55, CD59) auf der Oberfläche von Erythrozyten kommt. Bei Komplementaktivierung sind infolge Erythrozyten empfindlicher gegenüber einer terminalen komplement vermittelten Lyse, was zu einer intravasculären Hämolyse führen kann. Daneben sind noch weitere pathophysiologische Prozesse zu beobachten (z.B. Thrombophilie, extravasculäre Hämolyse), deren genaue Mechanismen noch Gegenstand der Forschung sind. Zentral ist noch die Assoziation der PNH zu anderen Formen des Knochenmarksversagen, vorgängig zur aplastischen Anämie (AA) und seltener zum myelodysplastischen Syndrom (MDS). Interessanterweise kann eine PNH sowohl vor als auch nach der Diagnose einer AA auftreten, wobei die zugrunde liegenden GPI-defiziente Zellen bei der erworbenen AA bereits in ca. 20% bei Diagnose zu finden sind (6).

Klassifikation

Aus der Assoziation der PNH zur AA

und der Ausprägung ergibt sich auch die Klassifikation, wonach die Erkrankung gemäss PNH Interest Group in drei Gruppen eingeteilt wird (7): klassische PNH, PNH im Kontext einer anderen Knochenmarkerkrankung und subklinische PNH (siehe Tabelle 1). Alternativ kann die Einteilung der Internationalen PNH Registry in die Gruppen «hämolytische», AA-PNH und intermediate PNH herangezogen werden, die allerdings sehr ähnlich ist.

Klinik

Wie eingangs erwähnt, ist der anfallsartige auftretende dunkelbraune (Morgen-) Urin nur bei einem kleineren Teil der Patienten nachweisbar. Stattdessen stehen bei den meisten Patienten mit chronischer intravasculärer Hämolyse die Beschwerden der Anämie (Schwäche, Fatigue, Belastungs-dyspnoe) im Vordergrund. Interessanterweise korreliert die Fatigue nicht mit dem Schweregrad der Anämie, sondern mit dem Ausmass der Hämolyse und der Grösse des PNH-Klons. Durch die intravasculäre Hämoglobinfreisetzung kommt es zusätzlich

¹ Klinik für Hämatologie, Universitätsspital Basel, Schweiz

Hämoglobinurie paroxystique nocturne: le caméléon de l'hématologie

L'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN) est une maladie hématologique bénigne rare dont le diagnostic et le traitement ont progressé de manière fulgurante ces dernières années. Bien que son nom laisse à penser qu'il s'agit d'une élimination brutale (paroxystique) nocturne de l'hémoglobine dans l'urine (hémoglobinurie), ses manifestations cliniques sont très variées et par conséquent, les indications de bilan diagnostique complémentaire sont larges. Cette maladie acquise est provoquée par la mutation somatique du gène PIG-A au niveau des cellules souches hématopoïétiques pluripotentes de la moelle osseuse, entraînant la perte des protéines liées à la molécule d'ancrage GPI (déficit en GPI) et donc une sensibilité accrue à l'hémolyse liée au complément terminal. Parallèlement à l'HPN hémolytique classique, il peut exister une forme subclinique de la maladie avec une insuffisance médullaire, alors caractérisée par une neutropénie et une thrombocytopénie. Sur le plan clinique, la maladie peut se manifester par une anémie hémolytique, et typiquement par une thrombophilie et des spasmes des muscles lisses (diminution de la quantité d'azote). Par ailleurs, l'importance et la multiplicité des signes sont étroitement liées à la taille du clone HPN. La méthode diagnostique de référence est l'immunophénotypage à partir de sang périphérique, test hautement sensible qui permet désormais de mettre en évidence de très petites populations déficientes en GPI (0,01 %, voire moins). En cas de signes de maladie, les patients doivent bénéficier rapidement d'une prise en charge correcte par un inhibiteur du complément, qui permet d'améliorer significativement l'évolution de la maladie, et d'autres inhibiteurs du complément prometteurs, actuellement en cours de développement, seront bientôt disponibles aussi.

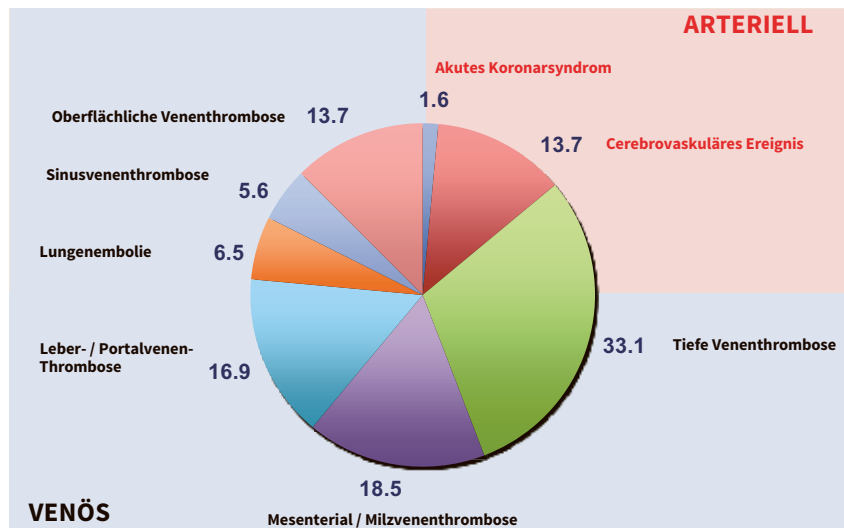


Abbildung 2: Thromboembolische Ereignisse bei PNH (16)

zur Depletion von Stickstoffmonoxid (NO-Depletion), was zur Kontraktion glatter Muskelzellen führt und sich klinisch in Schmerzen, Schluckstörungen, Nierenfunktionseinschränkung, erektiler Dysfunktion und pulmonaler Hypertonie bemerkbar macht (8). Die relevanteste Komplikation der Erkrankung sind thromboembolische Ereignisse, die primär die erhöhte Mortalität und Morbidität erklären (2). Thrombosen treten häufiger venös als arteriell auf (Abbildung 2), allerdings nicht nur an typischen, sondern auch atypischen Lokalisationen. Mittlerweile sind dazu diverse Fallberichte veröffentlicht worden (9, 10), die diese aussergewöhnlichen Erscheinungen illustriert haben (Herzinfarkt, Sinusvenenthrombose, Milzvenenthrombose, usw.) und nochmal verdeutlichen, dass die PNH zur Differenzialdiagnose einer unerklärten Thrombophilie, besonders an atypischen Lokalisationen, stets herangezogen werden sollte (siehe Abbildung 1).

Durch Überlappung mit einem Knochenmarkversagen kann es ebenso zu Beschwerden der Neutropenie (Infekte) und Thrombozytopenie (Blutungen) kommen. Das Infekt- und Blutungsrisiko kann zusätzlich therapiebedingt erhöht sein, da einige Patienten primär- oder sekundärprophylaktisch blutverdünnt sind und die Standardtherapie (Komplement-Inhibitor) mit einem erhöhten Risiko für Infekte durch bekapselte Bakterien (Meningokokken, Hämophilus, Pneumokokken) verbunden ist. Gesamthaft ist das Ausmass der Beschwerden eng mit der sogenannten PNH-Klon-Grösse verbunden, das heisst meist erst ab einem Klon >50% wird die Erkrankung klinisch wirksam, während die Patienten mit kleineren Klongrössen meist asymptomatisch sind. Allerdings sind letztere Patienten nicht zu vernachlässigen, da die Klongrösse mit der Zeit zunehmen kann und die Patienten auf einmal rasch symptomatisch werden können. Im

Falle des Thromboserisikos, so steigt dieses bereits um das 1,64-Fache bei 10%igem Anstieg des PNH-Klons (11).

Diagnose

Neben einer ausführlichen Anamnese und klinischen Untersuchung gehören zur Basis-Labor-Diagnostik ein grosses Blutbild inkl. Retikulozyten, Handdifferenzierung, Hämolyseparameter (Bilirubin, LDH, Haptoglobin), Coombs-Test und eine Immunphänotypisierung aus dem peripheren Blut (Tabelle 2). Letztere Untersuchung ist der Goldstandard für die Diagnose einer PNH. Sollten sich neben der Anämie weitere Auffälligkeiten im Blutbild nachweisen lassen (Thrombozytopenie, Neutropenie), so ist eine weitere Knochenmarkdiagnostik zur Abklärung eines assoziierten Knochenmarkversagens indiziert. Abbildung 3 illustriert die heutigen Indikationen für eine Immunphänoty-

	Intravasale Hämolyse*	Knochenmark	Immunphänotypisierung
Klassische PNH	Schwere intravasale Hämolyse	Erythroide Hyperplasie, daneben normale Morphologie	Grosser PNH-Klon (>50%)
PNH im Kontext anderer Knochenmarkerkrankungen	Milde intravasale Hämolyse	Andere Knochenmarkerkrankung (AA, MDS)	Moderat grosser PNH-Klon (10–50%)
Subklinische PNH	Kein Nachweis einer intravasalen Hämolyse	Andere Knochenmarkerkrankung (AA, MDS)	Kleiner PNH-Klon (< 10%)

Tabelle 1: Klassifikation der paroxysmalen nächtlichen Hämoglobinurie gemäss der internationalen PNH Interest Group (7)

*basierend auf makroskopischer Hämoglobinurie, LDH, Retikulozyten-Anzahl

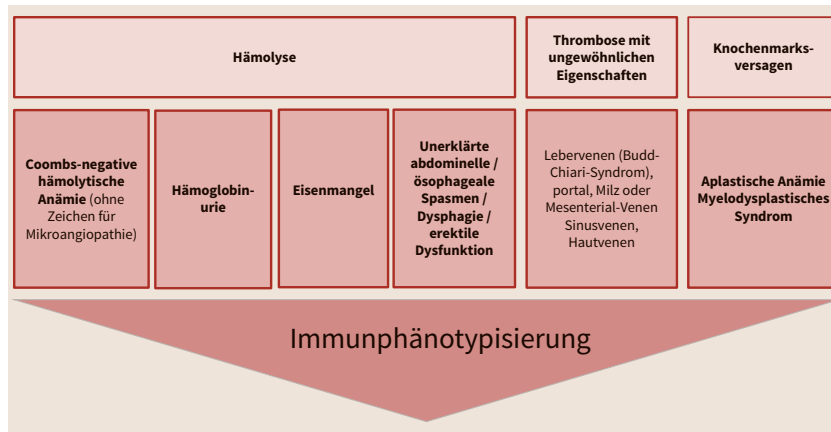


Abbildung 3: Indikationen zur Durchführung einer Immunphäotypisierung (17)

pisierung zum Nachweis GPI-defizienter Zellen (12). Neben einer Hämolyse kombiniert mit einer Coombs-negativen hämolytischen Anämie, Hämoglobinurie, Eisenmangel und/oder unerklärten abdominellen Schmerzen, Ösophagusspasmen, Dysphagie und erektiler Dysfunktion, sollten thromboembolische Ereignisse an ungewöhnlichen Lokalisationen (Lebervene, Portalvene, Milzvene, Sinusvenen, Hautvenen) sowie ein Knochenmarkversagen dazu bewegen, eine weiterführende Diagnostik in die Wege zu leiten. Um die Diagnose zu sichern und ein möglichst aussagekräftiges Resultat zu erhalten, sind folgende Empfehlungen für die Diagnostik abgegeben worden (13–15):

- Untersuchung aus dem peripheren Blut innerhalb von 24 bis 48 Stunden (Knochenmark ist nicht geeignet, da hämatopoietische Vorläuferzellen verschiedener Differenzierungsstadien die GPI-verankerten Proteine in unterschiedlichem Ausmass exprimieren)
- Probe: Minimum ist 1 ml, empfohlen sind 3 ml EDTA-Blut, Versand mit Hitze- und Kälteschutz
- Sog. 2x2-Regel: Nachweis von mindestens zwei GPI-verankerten Proteinen oder mindestens einem GPI-verankerten Protein mit dem GPI-Anker selbst (mittels FLAER) innerhalb mindestens zweier verschiedener Zelllinien (Granulozyten, Monozyten oder Erythrozyten)
- Durchführung vor Erythrozyten-Transfusion
- Durchführung eines hochsensitiven Tests, der definiert ist über den Nachweis sehr kleiner GPI-defizienter Populationen (0,01% oder kleiner), besonders bei gleichzeitig vorliegendem

Knochenmarkversagen, da hier meist sehr kleine Populationen auftreten.

Daneben wird auch die Teilnahme an Ringversuchen (z.B. UK NEQAS, INSTAND e.V.) zur Qualitätssicherung empfohlen, da ein standardisiertes und unter verschiedenen Laboren vergleichbares Vorgehen in Bezug auf die Präanalytik, Probenvorbereitung, Antikörperauswahl, Zellakquise und Gating nicht etabliert und kommerzielles Kontrollmaterial nicht erhältlich ist.

Sobald die Diagnose einer PNH gestellt worden ist, sind Verlaufskontrollen des PNH-Klons je nach Klinik, Klongrösse und Behandlung

alle sechs bis zwölf Monate indiziert, da der Klon innerhalb weniger Monate zunehmen kann. Zusätzlich empfiehlt sich unter der Behandlung mit C5-Komplement-Inhibitoren bei weiterhin erhöhter LDH als Hinweis für eine persistierende Hämolyse die Abnahme eines Coombs-Tests, um eine extravaskuläre Hämolyse zu suchen (C3d+), und Komplement-Assays (z.B. CH50), um eine adäquate Blockade des terminalen Komplementwegs zu verifizieren.

Behandlung

Nachdem sich jüngst rasante Fortschritte im Bereich der Behandlung erzielen liessen, hier eine kurze Ausführung dazu. Grundsätzlich ergibt sich die Therapie aus der Klassifizierung der Erkrankung (hämolytisch versus aplastisch) und dem Beschwerdeaussmass. Die PNH im Rahmen einer anderen Knochenmarkerkrankung (meist AA) ist per se gemäss den Behandlungsalgorithmen der AA zu therapieren. Die klassische hämolytische PNH ist wiederum erst bei klinisch symptomatischen Patienten behandlungsbedürftig (Abbildung 4). Nachdem die Patienten jahrzehntelang primär nur supportiv behandelt werden konnten (Bluttransfusion) und die allogene Stammzelltransplanta-

Empfohlene Untersuchung

Anamnese	PNH-typische Beschwerden (Anämie, Fatigue, Dyspnoe, Hämoglobinurie, Schmerzkrisen, Dysphagie, erektile Dysfunktion, thromboembolische Ereignisse, Blutungen)
Klinische Untersuchung	Anämie-Zeichen, Hinweise für akute oder abgelaufene Thrombosen, Ikterus, Blutungszeichen, Splenomegalie
Blutbild inkl. Retikulozytenzahl	Hämolytische Anämie, Retikulozytose
Handdifferenzierung	Zum Ausschluss von Differenzialdiagnosen (z.B. Mikroangiopathie)
Hämolyseparameter	Bilirubin, LDH, Haptoglobin
Coombs-Test	Zum Ausschluss Autoimmunhämolyse
Eisenstatus	Eisenmangel (möglich durch renalen Verlust bei Hämoglobinurie/Hämosiderinurie)
Immunphäotypisierung aus dem peripheren Blut	Goldstandard für die PNH-Diagnose
Knochenmarkpunktion	Bei weiteren Zytopenien und v.a. assoziierter Knochenmarkerkrankung
Sonografie	Splenomegalie, Lebervenen-, Pfortader-, Milzvenen- und/oder Mesenterialvenenthrombose?

Tabelle 2: Diagnostik der PNH bei Diagnose

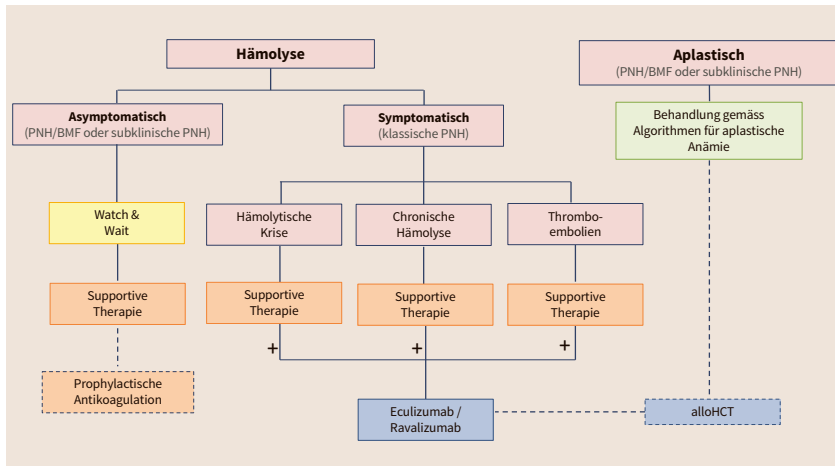


Abbildung 4: Therapiealgorithmus der PNH (1)

tion für diese Patientengruppe mit einem schlechten Outcome verbunden war, hat sich die Prognose der Erkrankung durch die Einführung des Komplement-Inhibitors Eculizumab (Soliris®) im Jahr 2007 massgeblich verbessert. Allerdings ist mit Eculizumab zum damaligen Zeitpunkt auch das teuerste Medikament des Marktes zugelassen worden, sodass die Indikationsstellung zur Behandlung seit anhin nur an ausgewählten Zentren und nach Registrierung im Swiss Soliris Reimbursement Register erfolgen kann. Letztes Jahr ist nun erstmals ein weiterer Komplement-Inhibitor namens Ravalizumab (Ultomiris®) in der Schweiz zugelassen worden, der im Vergleich zu Eculizumab statt alle zwei Wochen nur noch im Abstand von acht Wochen intravenös verabreicht werden muss. Als C5-Inhibitoren blockieren beide das Komplementsystem auf Ebene der terminalen Lyse, was letztlich zu einer weiterbestehenden extravaskulären Hämolyse führen kann und somit einige Patienten weiterhin unter eine Anämie mit signifikanten Einfluss auf die Lebensqualität leiden. Zuletzt konnten nun verschiedenste neue Substanzen in der präklinischen Testung als auch bereits in Phase-III-Studien evaluiert werden, die das Komplementsystem auch proximaler blockieren (z.B. C3, Faktor D, Faktor B) und nach ersten Resultaten sogar mit einer Normalisierung des Hämoglobins und somit auch der klinischen Symptomatik verbunden sein können. Zusätzlich sind Substanzen entwickelt worden, die statt intravenös nun auch oral oder subkutan verabreicht werden

können und somit die Applikation für die Patienten stark vereinfachen. Leider hat die Schweiz an keiner klinischen Studie teilnehmen können, sodass wir auf die finale Zulassung der Substanzen warten müssen.

Fazit

Die PNH ist zwar eine sehr seltene hämatologische Erkrankung, aber sie sollte als «Chamäleon der Hämatologie» in die Differenzialdiagnose verschiedener Manifestationen – voran der Coombs-negativen hämolytischen Anämie und unklaren thromboembolischen Ereignissen – miteinbezogen werden und eine entsprechende Diagnostik zur Folge haben. Die Diagnose ist mittlerweile durch Immunphänotypisierung genau und rasch zu stellen, sodass Patienten mit Beschwerden zügig einer adäquaten Behandlung zugeführt werden können, welche das Outcome der Patienten signifikant verbessert und voraussichtlich durch weitere Substanzen derzeit in der Pipeline weiter verbessern kann.

Korrespondenz
beatrice.drexler@usb.ch

Referenzen

- Hill A, DeZern AE, Kinoshita T, Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17028.
- Hillmen P, Lewis SM, Bessler M, Luzzatto L, Dacie JV. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med*. 1995; 333(19):1253-8.
- Socie G, Schrezenmeier H, Muus P, Lisukov I, Roth A, Kulasekararaj A, et al. Changing prognosis in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria disease subcategories: an analysis of the International PNH Registry. *Intern Med J*. 2016; 46(9):1044-53.
- Schrezenmeier H, Muus P, Socie G, Szer J, Urbano-Ispizua A, Maciejewski JP, et al. Baseline characteristics and disease burden in patients in the International Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Registry. *Haematologica*. 2014; 99(5): 922-9.
- Takeda J, Miyata T, Kawagoe K, Iida Y, Endo Y, Fujita T, et al. Deficiency of the GPI anchor caused by a somatic mutation of the PIG-A gene in paroxysmal hemoglobinuria. *Cell*. 1993; 73(4): 703-11.
- 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): 476-82.
- Parker C, Omine M, Richards S, Nishimura J, Bessler M, Ware R, et al. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2005;106(12): 3699-709.
- 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):1653-62.
- Sykes DB, Rosovsky RP, Singhal AB, Gonzalez RG, Moy AP. Case 40-2017. A 32-Year-Old Woman with Headache, Abdominal Pain, Anemia, and Thrombocytopenia. *N Engl J Med*. 2017; 377(26): 2581-90.
- Gerber B, Kyburz T, Reinhard WH, Bonetti PO, Stussi G. Complement inhibition to treat myocardial infarction? *BMJ Case Rep*. 2011; 2011.
- Hall C, Richards S, Hillmen P. Primary prophylaxis with warfarin prevents thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). *Blood*. 2003; 102(10): 3587-91.
- Borowitz MJ, Craig FE, Diguseppe JA, Illingworth AJ, Rosse W, Sutherland DR, et al. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom*. 2010; 78(4): 211-30.
- Sutherland DR, Illingworth A, Marinov I, Ortiz F, Andreasen J, Payne D, et al. ICCS/ESCCA consensus guidelines to detect GPI-deficient cells in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and related disorders part 2 – reagent selection and assay optimization for high-sensitivity testing. *Cytometry B Clin Cytom*. 2018; 94(1): 23-48.
- Illingworth A, Marinov I, Sutherland DR, Wagner-Ballon O, Del Vecchio L. ICCS/ESCCA consensus guidelines to detect GPI-deficient cells in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and related disorders part 3 – data analysis, reporting and case studies. *Cytometry B Clin Cytom*. 2018; 94(1): 49-66.
- Oldaker T, Whitby L, Saber M, Holden J, Wallace PK, Litwin V. ICCS/ESCCA consensus guidelines to detect GPI-deficient cells in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and related disorders part 4 – assay validation and quality assurance. *Cytometry B Clin Cytom*. 2018; 94(1): 67-81.
- Hillmen P, Muus P, Dührsen U, Risitano AM, Schubert J, Luzzatto L, et al. Effect of the complement inhibitor eculizumab on thromboembolism in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2007;110(12): 4123-8.
- Roth A, Maciejewski J, Nishimura JI, Jain D, Weitz JI. Screening and diagnostic clinical algorithm for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: Expert consensus. *Eur J Haematol*. 2018;101(1): 3-11.